



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**Optimización del análisis bioinformático del exoma de
una paciente con cáncer de mama de diagnóstico
complicado: estudio de variantes de susceptibilidad a
la enfermedad y farmacogenética**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

María Haydee VILLANUEVA RAMÍREZ

ASESOR

Mg. Oscar ACOSTA CONCHUCOS

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Villanueva M. Optimización del análisis bioinformático del exoma de una paciente con cáncer de mama de diagnóstico complicado: estudio de variantes de susceptibilidad a la enfermedad y farmacogenética [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2020.

Hoja de Metadatos complementarios

Código ORCID del autor	0000-0002-2571-7994
DNI o pasaporte del autor	73127694
Código ORCID del asesor	0000-0002-1912-0251
DNI o pasaporte del asesor	09456570
Grupo de investigación	GENOBIDC
Agencia financiadora	Vicerrectorado de Investigación y Postgrado – UNMSM.
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	Laboratorio de Bioquímica de la facultad de Farmacia y Bioquímica –UNMSM Ubicación: Jirón Huanta 1182, Cercado de Lima 15001 Coordenadas geográficas: -12.0558004, -77.0235465.
Año o rango de años en que se realizó la investigación	1 año y 6 meses
Disciplinas OCDE	Genética humana http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.02

Nota: tomar en cuenta la forma de llenado según las precisiones señaladas en la web (las tablas OCDE están incluidas).
https://sisbib.unmsm.edu.pe/archivos/documentos/recepcion_investigacion/Hoja%20de%20metadatos%20complementarios_30junio.pdf



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Optimización del análisis bioinformático del exoma de una paciente con cáncer de mama de diagnóstico complicado: Estudio de variantes de susceptibilidad a la enfermedad y farmacogenética

Que presenta la Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

MARÍA HAYDEE VILLANUEVA RAMÍREZ

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

16 (Dieciseis)

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 29 de setiembre de 2020

Mg. Luis Alberto Rojas Ríos

Presidente

I. DEDICATORIA

Dedicado a mis padres (Sara Ramírez y Víctor Villanueva) y familia (hermanos, abuelos, tíos y primos) por el apoyo incondicional que siempre he recibido en cada uno de mis proyectos.

II. AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a Dios por las oportunidades que me ha dado día a día, al Vicerrectorado de Investigación y Postgrado de UNMSM por haber subvencionado el proyecto con código A18040654 y al Mg. Oscar Acosta por el apoyo que me ha brindado en todo momento con la realización de la tesis, de igual manera a la licenciada Daisy Obispo.

A mi facultad de Farmacia y Bioquímica por el aprendizaje obtenido dentro de sus aulas con cada una de las lecciones impartidas.

III. TABLA DE CONTENIDO

- ÍNDICE

ABREVIATURAS	vi
RESUMEN / PALABRAS CLAVES	viii
ABSTRACT / KEYWORDS	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. HIPÓTESIS	3
3. OBJETIVOS	
3.1. Objetivo general	3
3.2. Objetivo específico	3
4. MARCO TEÓRICO	
4.1. Antecedentes	4
4.2. Cáncer	5
4.3. Cáncer de mama	6
4.4. Cáncer de mama triple negativo	7
4.5. Vías de señalización relacionadas al CMTN de mayor prevalencia	8
4.5.1. Vía de señalización NOTCH	8
4.5.2. Vía de señalización Wnt/ β -catenina	9
4.5.3. Activación del receptor de tirosina quinasa (RTK)	9
4.5.3.1. Vía de señalización PI3K / AKT	10
4.5.3.2. Vía de señalización Ras/ MAPK	11
4.6. Tratamiento para el CMTN – Farmacogenética	12
4.6.1. Ciclofosfamida	13
4.6.2. Doxorrubicina	15
4.6.3. Paclitaxel	17
4.7. Genoma y exoma humano	18
4.8. Tecnología para el análisis de exomas	18
4.9. Análisis bioinformático del secuenciamiento de exoma completo	19
4.9.1. Evaluación de calidad de lecturas brutas (reads)	19
4.9.2. Filtrado de lecturas por calidad	19
4.9.3. Alineamiento con el genoma de referencia	20
4.9.4. Ordenamiento de las lecturas mapeadas	20
4.9.5. Marcar duplicaciones	20
4.9.6. Ajuste de alineamiento	20
4.9.7. Visualización del alineamiento	21
4.9.8. Llamado de las variantes	21
4.9.9. Anotación y filtrado de las variantes	21
5. METODOLOGÍA	
5.1. Muestra	23
5.2. Secuenciación del exoma	23
5.2.1. Preparación de muestra	23
5.2.2. Construcción de biblioteca/librería para secuenciamiento	23

5.2.3. Secuenciamiento	24
5.2.4. Generación de datos en bruto	24
5.3. Análisis bioinformático	25
5.3.1. Análisis bioinformático base	25
5.3.2. Pasos para la propuesta de optimización del análisis bioinformático	26
5.4. Aspectos éticos	29
6. RESULTADOS	
6.1. Datos de la paciente	30
6.2. Análisis bioinformático del exoma de la paciente con CMTN.	30
6.2.1. Evaluación de la calidad de lecturas para el análisis bioinformático.	31
6.2.2. Visualización del alineamiento de lecturas del análisis bioinformático.	32
6.2.3. N° de variantes genéticas encontradas en la paciente.	33
6.3. Análisis de variantes genéticas con alto impacto en la paciente	34
6.4. Análisis de variantes genéticas con alto impacto y variación splice(ajustes) en la paciente.	48
6.5. Análisis de quimioterapéuticos y las variantes genéticas reportadas en la paciente.	62
7. DISCUSIÓN	65
7.1. Análisis bioinformático	65
7.2. Variantes de susceptibilidad a la enfermedad	69
7.3. Quimioterapéuticos y variantes genéticas reportados en la paciente	73
8. CONCLUSIONES	76
9. RECOMENDACIONES	77
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
11. ANEXO	95
12. APÉNDICE	100

- **ÍNDICE DE TABLAS:**

- **Tabla 1:** Quimioterapéuticos para el CMTN y sus sitios de acción.
- **Tabla 2:** Quimioterapéuticos y genes relacionados
- **Tabla 3:** Comparación de etapas entre el análisis bioinformático base y optimizado.
- **Tabla 4:** Comparación del N° de variantes genéticas encontradas en el análisis bioinformático base y el optimizado.
- **Tabla 5:** Variantes genéticas de alto impacto relacionadas con el CMTN en la paciente.
- **Tabla 6:** Variantes genéticas de alto impacto relacionadas con el cáncer de mama en la paciente.
- **Tabla 7:** Variante genética de alto impacto, novels (variantes nuevas) relacionadas con el CMTN y el cáncer de mama.
- **Tabla 8:** Variantes genéticas de alto impacto y variación splice relacionados con el CMTN en la paciente.
- **Tabla 9:** Variantes genéticas de alto impacto y variación splice relacionados con el cáncer de mama en la paciente
- **Tabla 10:** Variantes genéticas de alto impacto, splices, novels (variantes nuevas) relacionados al cáncer de mama y CMTN en la paciente.
- **Tabla 11:** Relación de quimioterapéuticos y las variantes genéticas reportados en la paciente.
- **Tabla 12:** Relación de quimioterapéuticos utilizados por la paciente y las variantes genéticas observadas.

IV. ABREVIATURAS

- **A:** Adenina
- **ADN:** Ácido desoxirribonucleico
- **ARN:** Ácido ribonucleico
- **ATP:** Adenosín trifosfato
- **BAM:** Versión binaria del SAM
- **C:** Citosina
- **CMTN:** Cáncer de mama triple negativo
- **dNTPs:** Deoxynucleotide triphosphates
- **EGFR:** Human epidermal growth factor
- **ER:** Receptor de estrógenos
- **G:** Guanina
- **GRC:** Genome reference consortium
- **GRCh37:** Genome reference consortium human genome build 37
- **GWAS:** Genome-wide association study
- **HER²:** Receptor de factor de crecimiento epidérmico humano 2 positivo
- **Hg19:** Human genome 19
- **INDEL:** Inserción-delección
- **INEN:** Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas
- **mTOR:** Diana de la rapamicina
- **NGS:** Next generation sequencing
- **PARP:** Poli ADP ribosa polimerasa
- **PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa
- **PR:** Receptor de progesterona
- **SAM:** Alineación de secuencia / mapeo
- **SNP:** Polimorfismo de nucleótido único
- **SNV:** Single nucleotide variant
- **T:** Timina
- **TKs:** Tirosina quinasa
- **VCF:** Variant calling format

- **VEGF:** Papel del factor de crecimiento endotelial vascular
- **VEP:** Variant effect predictor
- **VUS:** Variant of uncertain significance
- **WES:** Whole exome sequencing

V. RESUMEN

El cáncer de mama se presenta con frecuencia entre las mujeres, siendo el cáncer de mama triple negativo (CMTN), considerado de diagnóstico complicado y de menor pronóstico favorable, caracterizándose por la ausencia de los receptores de estrógenos, progesterona y factor de crecimiento epidérmico humano 2; por ello es importante la identificación de genes, como el BRCA, responsables de producir la enfermedad, así como los genes que intervienen en la actividad de los quimioterapéuticos utilizados; de esta forma, se mejora el diagnóstico y la terapia es personalizada.

La investigación tuvo como objetivo optimizar el análisis bioinformático de un exoma de una paciente con cáncer de mama triple negativo y evaluar las variantes de susceptibilidad a la enfermedad y de respuesta a drogas.

La metodología incluyó la extracción del ADN de la muestra de sangre de una paciente, la secuenciación del exoma completo y el análisis bioinformático teniendo en cuenta la clasificación genética de alto impacto e identificación de variantes: patogénicas, inciertas(VUS), novedales (variantes nuevas), splices y de respuesta a droga en el CMTN.

Se identificaron 44 variantes genéticas de alto impacto relacionadas al CMTN, reportando, en el gen SMPD1 una variante patogénica de relevancia clínica y en el gen ROBO2, una variante de significado incierto (VUS), 20 variantes nuevas, 19 genes con variante splice y 5 genes con variante splice-novel que podrían ser patogénicas con relevancia clínica para el CMTN. Asimismo, se observaron 4 variantes en genes ERCC1, CYP2B6, XRCC1 y CBR3 respectivamente, relacionadas a la respuesta terapéutica con Adriamicina, Ciclofosfamida y Paclitaxel, tratamiento seguido por la paciente

La optimización del análisis bioinformático del exoma de la paciente con CMTN ha permitido describir variantes genéticas conocidas y nuevas que pueden relacionarse con la susceptibilidad a la enfermedad y la respuesta al tratamiento en el CMTN.

Palabras Claves: *Cáncer de mama, cáncer de mama triple negativo CMTN, genes, secuenciación del exoma, variantes genéticas, susceptibilidad, respuesta a drogas.*

ABSTRACT

Breast cancer occurs frequently among women, being triple negative breast cancer (CMTN) considered the of complicated diagnosis and a lower favorable prognosis, characterized by absence of estrogen, progesterone and epidermal growth factor receptor human 2 receptors; for this reason, it is important to identify genes, such as BRCA, responsible of disease produced, as well as genes involved in chemotherapeutic agents activity; in this way, diagnosis is improved and therapy is personalized.

For these reasons, it was presented as objective optimizing bioinformatic analysis an exome from a triple negative breast cancer patient and evaluate disease susceptibility variants and drug response.

The methodology included the extraction of DNA from a patient's blood sample, sequencing of complete exome and bioinformatic analysis taking into account the high impact genetic classification and identifying variants: pathogenic, uncertain (VUS), novels (new variants), splices and drug response in CMTN.

44 high-impact genetic variants related to CMTN were identified, reporting a SMPD1 gene as a pathogenic variant with clinical relevance and ROBO2 gene as a variant of uncertain significance (VUS), 20 new variants, 19 splice variant genes and 5 genes with splice-novel variant that could be pathogenic with clinical relevance on CMTN. For therapy, 4 genetic variants (ERCC1, CYP2B6, XRCC1, CBR3) were observed in response to patient therapy (Adriamycin, Cyclophosphamide, Paclitaxel).

Optimizing bioinformatic analysis of exome on CMTN patient has allowed us describe known and new genetic variants that can be related to disease susceptibility and response to treatment in CMTN.

Key Words: *Breast cancer, triple-negative breast cancer TNBC, genes, exome sequencing, genetic variants, susceptibility, drug response.*

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es la enfermedad más común en todo el mundo y la segunda causa de muerte de las mujeres con cáncer y que se encuentra en aumento en nuestro país^{1,2}.

Según la expresión genética, el cáncer de mama se puede clasificar en los subtipos: Luminal A (receptor de estrógeno positivo), Luminal B (receptor de estrógeno positivo - proliferativo), Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (Her²⁺) y Basal (triple negativo)^{3, 4}.

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) es el subtipo más agresivo, con una alta prevalencia en mujeres afroamericanas, además de latinas, presentó en el Perú una prevalencia del 21.3% entre los cánceres de mama el año 2013 ⁵. El CMTN se asocia a variantes en los genes BRCA1, BRCA2, TP53, BCL2, entre otros, caracterizándose por no observarse el receptor de estrógeno (ER), receptor de progesterona (PR) y sobre-expresión del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (Her-2), además puede desarrollar metástasis en el pulmón, sistema nervioso central y sistema óseo ^{3,6}.

El tratamiento del CMTN está basado en la terapia de taxano/antraciclina; sin embargo, la selección de quimioterapia depende de las características de la paciente, tumor, velocidad de progresión de la enfermedad, comorbilidades, terapia coadyuvante previa, preferencia del paciente, entre otros^{7, 8}.

La herramienta bioinformática proporciona, además de conceptos, métodos prácticos para el estudio funcional de la célula y como organismo, utilizando la secuencia completa de exoma y genoma de personas sanas así como de pacientes con diferentes patologías, para identificar variaciones genéticas que ayuden al pronóstico y predicción de la enfermedad en forma personalizada, logrando detectar mutaciones patogénicas, nuevas o no reportadas (novel), variantes de significado clínico incierto o desconocido (VUS), entre otros; por ello estas herramientas son de utilidad primordial para las mujeres diagnosticadas con

CMTN⁵. Sin embargo, es necesario optimizar el análisis bioinformático para que sea una herramienta dinámica además de complementaria en el diagnóstico, especialmente de patologías como el CMTN cuya etiología y diagnóstico es complicado^{1,8,9,10}.

Debido a lo expuesto, el presente estudio tiene como objetivo optimizar el análisis bioinformático de un exoma de una paciente con cáncer de mama triple negativo y evaluar las variantes de susceptibilidad a la enfermedad y la respuesta a las diferentes alternativas de quimioterapia existentes en la actualidad para dicha patología.

2. HIPÓTESIS (Si el tipo de estudio lo requiere)

No corresponde, siendo un estudio descriptivo tipo reporte de caso.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Optimizar el análisis bioinformático de un exoma de una paciente con cáncer de mama triple negativo y evaluar las variantes de susceptibilidad a la enfermedad y de respuesta a drogas.

3.2. Objetivos específicos

- Optimizar el análisis bioinformático del exoma de una paciente con cáncer de mama triple negativo
- Evaluar en el exoma las variantes de susceptibilidad a la enfermedad y de respuesta a drogas en una paciente con CMTN mediante secuenciamiento masivo.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. ANTECEDENTES:

- Kwong A, et al. (2016). Describen la importancia de la detección genética en cáncer hereditario de mama y ovario, mediante la tecnología de secuenciación del genoma, identificando variaciones genéticas diferentes al BRCA además de variantes nuevas (novels) y variantes de significado incierto (VUS), promoviendo mayor investigación en el área genética¹.
- Sporikova Z, et al. (2018). Identificaron variantes genéticas diferentes del BRCA ligados al cáncer de mama triple negativo los cuales fueron el TP53, PIK3CA, PTEN, INPP4B, EGFR, FGFR1, FGFR2, VEGFRA, VEGFRB, VEGFRC, AR, BCL2, siendo importantes para mejorar el diagnóstico, pronóstico y terapia personalizada del paciente ⁶.
- Gonzales B, et al. (2010). Reconocieron al cáncer como la consecuencia de una variación puntual en el ADN, en su mayoría en el gen P53, finalmente concluyen la necesidad de la investigación genética para comprender mejor el desarrollo del cáncer ¹².
- González I, et al. (2018). Señalan que el secuenciamiento de próxima generación (Next generation sequencing-NGS), así como los paneles multigénicos, permiten asociar variaciones genéticas con el cáncer de mama hereditario, presentando variantes genéticas con alto (BRCA1, BRCA2, TP53), moderado (PTEN, CDH1, STK11) y bajo riesgo (PALB2, ATM, CHEK2, NF1) proporcionando de esta forma un mejor seguimiento clínico a la paciente¹⁶.

4.2. CÁNCER:

El cáncer se produce por errores puntuales en el ADN, ocasionado por exposición a mutágenos o herencia familiar y el desarrollo de polimorfismos de genes (amplificaciones o supresiones), que se comportan como oncogenes o supresores de tumor, debiendo haber varios genes alterados en forma secuencial para dar lugar a la neoplasia^{12,13}. La mayoría de tumoraciones sólidas se encuentran asociadas al cáncer, registrándose en el Perú 11 836 casos a nivel nacional el año 2018^{2, 11}.

Las células neoplásicas presentan una alta proliferación celular por consiguiente no siguen los controles fisiológicos normales debido a alteraciones en la división, diferenciación, vías de señalización, apoptosis, actividad citolítica celular y evasión de la vigilancia inmunitaria por supresión de la proliferación de células TCD8⁺. Asimismo, existen proteínas como las cinasas; receptores de membrana, péptidos estructurales, reguladores citoplasmáticos, factores de transcripción, elementos relacionados con el ciclo celular que constituyen moléculas claves en la génesis del cáncer y reparación del ADN^{12, 13, 14}.

Los genes con mayor nivel de mutación, independiente del tipo de cáncer, son: TP53, PTEN, PIK3CA, EGFR, VHL, KEAP1, SMAD4, KMT2C, RHCA, MTCR, BRAF, SF3B1, SETD2, KRAS, KIT, PPP2R1A, HRAS, NFE2L2, PTPN11, DIOER1, DDX3X, PIK3R1, NRAS, MAP2K1, CASF8, T3FBR2, MAPK1, OJL1, KLF6DH2 y BOL2L11. Las variantes genéticas relacionados con farmacogenética son: SKCM, UUV, LGG, PAAD, COAD, THCA, READ, UCEC, LUAD, BRCA, CESC, UCS, TGCT, BLCA, CHOL, GBM, LAML, HNSC, STAD, LUSC, ESCA, LIHC, KIRP, THYM, OV, PCPG, ACC, PRAD, DLBC, KIRC, KICH, MESO y SARC¹⁵.

Las nuevas tecnologías son importantes para la detección de variantes genéticas, dentro de ellas tenemos al Oncotype Dx, Mammaprint y las plataformas de secuenciación masiva-NGS que permiten analizar simultáneamente pacientes con

diferentes síndromes hereditarios, determinando genes con un alto y moderado riesgo de producir cáncer ^{8, 11, 16}.

4.3. CÁNCER DE MAMA:

El cáncer de mama es la neoplasia maligna sólida más frecuente en mujeres en el mundo y en el Perú como el segundo tipo de cáncer con mayor prevalencia entre las mujeres adultas^{2, 17}.

Este tipo de cáncer se origina en el tejido mamario, ubicado frecuentemente a nivel de los conductos y los lóbulos mamarios, denominándose carcinoma ductal y lobulillar respectivamente teniéndose en cuenta para su diagnóstico el tamaño, grado y estado nodal del tumor, así como la expresión del receptor hormonal que se presente en la enfermedad^{8,4}.

El cáncer de mama se puede desarrollar por factores ambientales y hereditarios asociadas a variaciones genéticas, siendo más conocidas las mutaciones en el BRCA1, BRCA2, TP53, PTEN, STK11, CDH1 y con menor prevalencia las mutaciones en los genes PALB2, ATM, CHEK2, NF-1^{8, 16}.

Según la expresión genética, el cáncer de mama, se puede clasificar en los subtipos: Luminal A (receptor de estrógeno positivo), Luminal B (receptor de estrógeno positivo y proliferativo), Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (Her²⁺) y Basal (triple negativo); diferenciándose por histopatología, incidencia, edad de diagnóstico, pronóstico y respuesta al tratamiento ^{3,4, 6,18}.

El cáncer de mama presenta con frecuencia metástasis en el pulmón, huesos, hígado y cerebro. Los tratamientos se basan en terapia inhibidora de Her²⁺ y endocrina dirigida a receptores de estrógeno, estimándose que solo un 30-40% de pacientes con cáncer de mama presentan insensibilidad a este tipo de terapia^{18, 19, 20, 21}.

4.4. CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO:

El cáncer de mama triple negativo representa el 15-20% de todos los nuevos casos de cáncer de mama y el 10-20% de cánceres invasivos, asociándose con una mayor incidencia en mujeres jóvenes menores de 40 años, con antecedentes familiares y/o portadoras de mutación en los genes BRCA1, BRCA2, BARD1, PALB2, RAD51D, entre otros. (Ver Apéndice 1: genes relacionados al Cáncer de mama triple negativo)^{6, 17,26}.

El cáncer de mama triple negativo es un carcinoma ductal invasivo de alto grado con muestras histopatológicas desfavorables, hipometilación generalizada en todo el genoma en comparación con otros subtipos de cánceres de mama y un índice de proliferación celular alto que no presenta receptor de estrógeno (ER), receptor de progesterona (PR) ni sobre-expresión del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (Her-2)^{3, 25,27}.

Aproximadamente el 30% de los pacientes con este tipo de cáncer experimentan una recaída dentro de los 5 años posteriores al diagnóstico; la mayoría de muertes ocurren dentro de los cinco años de tratamiento y los pacientes con enfermedad residual después de la quimioterapia presentan un mal pronóstico, pudiendo deberse a la plasticidad de las células tumorales y la persistencia de células madre cancerígenas (CSC)^{6, 22, 23}.

Este tipo de cáncer de mama se puede subclasificar en: Basal 1, Basal 2, Mesenquimatosas, Mesenquimáticas (mesenquimales), Células madre, Inmunomoduladoras, Enriquecida de andrógenos, sin embargo, casi siempre los investigadores se refieren al subtipo basal y al CMTN como sinónimos^{3,24}.

La metástasis del CMTN se produce mayormente en el pulmón, sistema nervioso central y con menor incidencia en el sistema óseo con una supervivencia media de 1 año⁶.

4.5. VÍAS DE SEÑALIZACIÓN RELACIONADAS AL CMTN DE MAYOR PREVALENCIA.

4.5.1. Vía de señalización NOTCH:

El dominio extracelular del receptor transmembrana Notch se puede unir a uno de sus ligandos (DLL1, DLL2, DLL3, Jag1, Jag2) ubicados en otra célula, produciendo una escisión proteolítica que libera el dominio intracelular del receptor Notch (NICD); el NICD recluta al coactivador (CoA) y a la proteína Mastermind-like 1 (MAML1) activando el complejo CBF1 – Su (H) –LAG 1 (CSL) en el sitio de unión en el ADN a fin de promover la activación de represores transcripcionales (HES1, HEY1), inhibidores de apoptosis (BCL2) además de proteínas relacionadas a la progresión celular (CCND1, MYC) y detención del ciclo celular (p21).

La señalización Notch finaliza al fosforilar el dominio PEST del NICD mediante la quinasa CDK8, seguido de la ubiquitinización por FBXW7 y la degradación proteasomal de mismo²⁸.

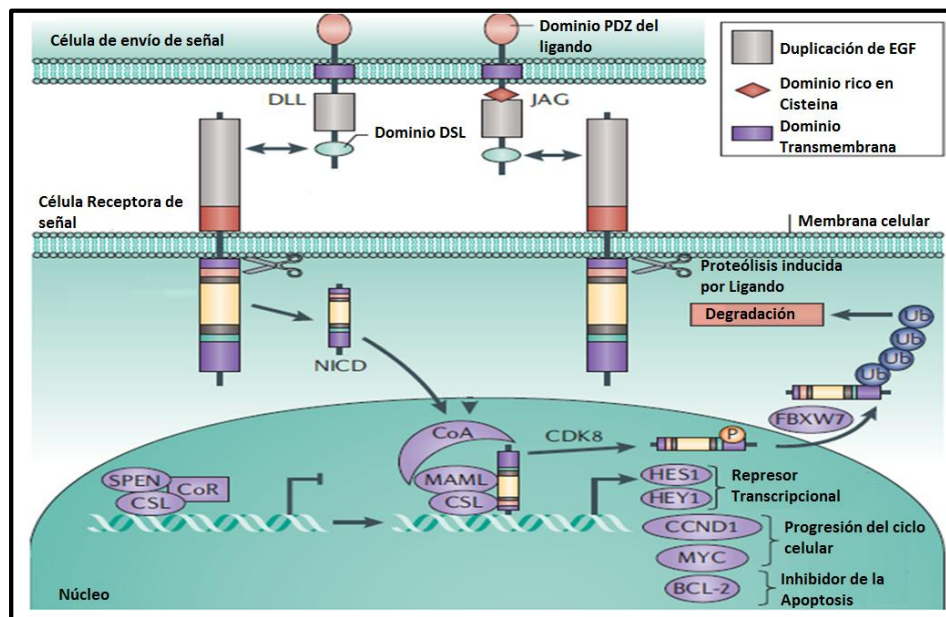


Figura 1: Vía de señalización NOTCH. Modificado de Notch signalling in solid tumours: a little bit of everything but not all the time²⁸.

4.5.2. Vía de señalización Wnt/ β -catenina:

Las proteínas Wnt ricas en cisteína se unen al co-receptor de lipoproteína de baja densidad 5/6 (LRP5/6) y al receptor transmembrana ondulante frizzled (FZD), posteriormente la proteína Dvl se une al receptor FZD mientras el co-receptor LRP5/6 es fosforilado por las quinasas GSK3 y CK1.

La proteína Axin 1 y el complejo metabolizador se unen al co-receptor fosforilado LRP5/6; dejando a la proteína β -catenina libre acumulándose en el citoplasma para después ser translocada al núcleo donde se une al complejo TCF (factor de célula T) / Lef (factor potenciador linfoide), ubicado en el ADN, activando de esta forma los genes diana que ocasionan la regulación del ciclo celular, crecimiento y progresión celular^{29, 30}.

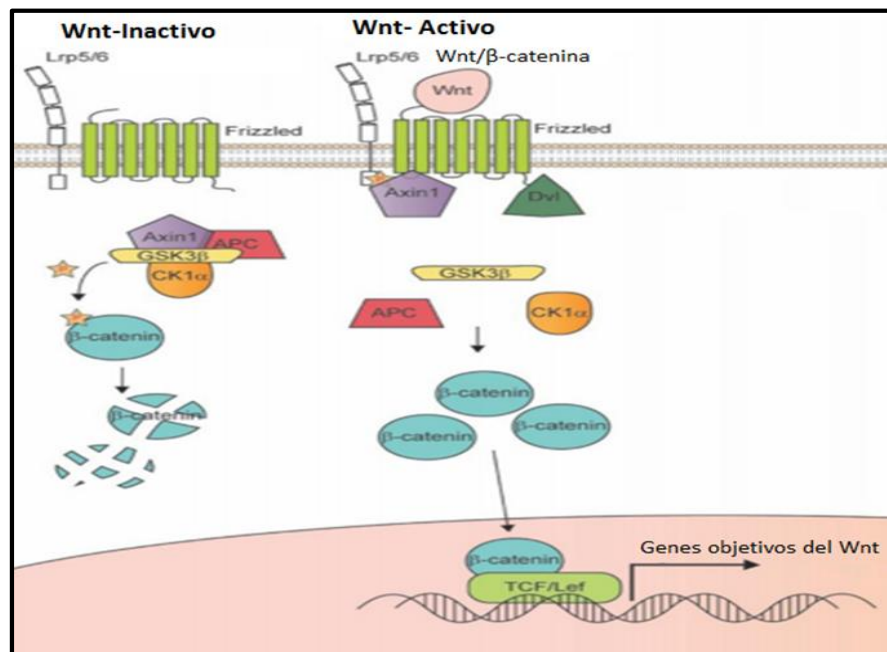


Figura 2: Vía de señalización Wnt. Modificado de Regulation of Wnt signaling by protocadherins³⁰.

4.5.3. Activación del Receptor de tirosina quinasa (RTK):

Los receptores de tirosina quinasa pueden activar vías de señalización implicadas en el cáncer de mama; relacionándose con el metabolismo, crecimiento, proliferación, diferenciación y supervivencia de células tumorales, por ello se consideran ser utilizadas como dianas farmacológicas en el CMTN ^{19,31,32,34}.

4.5.3.1. Vía de señalización PI3K / AKT:

Esta vía de señalización se produce al activarse los receptores de tirosina quinasa (RTKs), iniciando la activación del fosfoinositol 3 quinasa (PI3K) ya sea directamente o produciéndose un cambio conformacional a través de las proteínas activadoras GAB1/2, IRS-1/2, FRS2 y HER3 (ERBB3). La quinasa PI3K activada fosforila al bisfosfato de fosfatidilinositol [PI (4,5) P2] a trifosfato de fosfatidilinositol [PI (3,4,5) P3], este fosfoinosítido a su vez activa a la quinasa 1 dependiente de fosfoinositida (PDK1) y junto al mTORC2 fosforilan a la proteína quinasa B (PKB) o AKT reclutada en la membrana plasmática. AKT fosforilada activa el mTORC1 y S6K, permitiendo el crecimiento y promoción de células tumorales; asimismo activa a la proteína MDM2, que reprime la actividad de la proteína supresora de tumores p53 evitando la apoptosis; además el AKT inhibe las proteínas Caspase-3, BAD/ BAX y FOXO1, promoviendo la supervivencia celular, igualmente inhibe la enzima glucógena sintasa cinasa 3 GSK3B, regulando el ciclo celular y el metabolismo de glucosa, y las proteínas P21 y P27, promoviendo la proliferación celular.

La vía de señalización finaliza cuando la fosfatasa SHIP-1/2 desfosforila a la PIP3 convirtiéndola en PIP2 ocasionando la desfosforilación de AKT por las proteínas PP2A y PH2PP1/2, además el homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN) y el inositol polifosfato-4-fosfatasa tipo II (INPP4B) desfosforilan al PIP3 y PIP2 respectivamente. ^{19, 32, 33, 129}

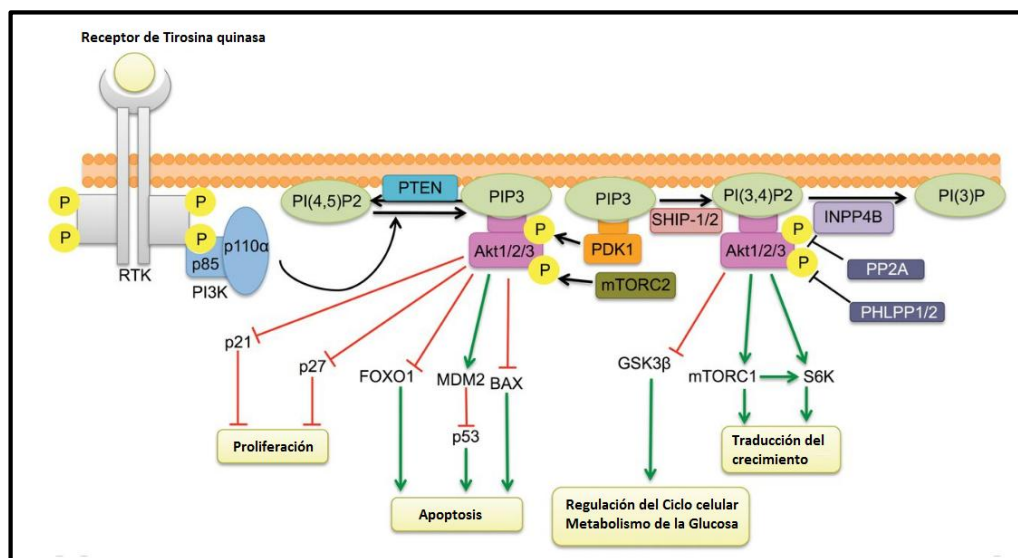


Figura 3: Vía de señalización PI3K / Akt. Modificado de Signalling specificity in the Akt pathway in breast cancer¹²⁹.

4.5.3.2. Vía de señalización Ras/ MAPK:

La familia Ras está compuesta por proteínas pequeñas GTPasas, activadas por intercambio de GDP a GTP pasando de Ras-GDP inactivo a Ras-GTP activo. La enzima Ras-GTP facilita la heterodimerización y activación intracelular de Raf, iniciando una cascada con la proteína quinasa activada-mitógena (MEK) y las quinasas ERK1 y ERK2, posteriormente la activación de los factores de transcripción ELK1, ETS1, ETS2 y MYC, interactuando en el ADN para programar la progresión, proliferación, invasión y supervivencia de las células cancerígenas³⁵.

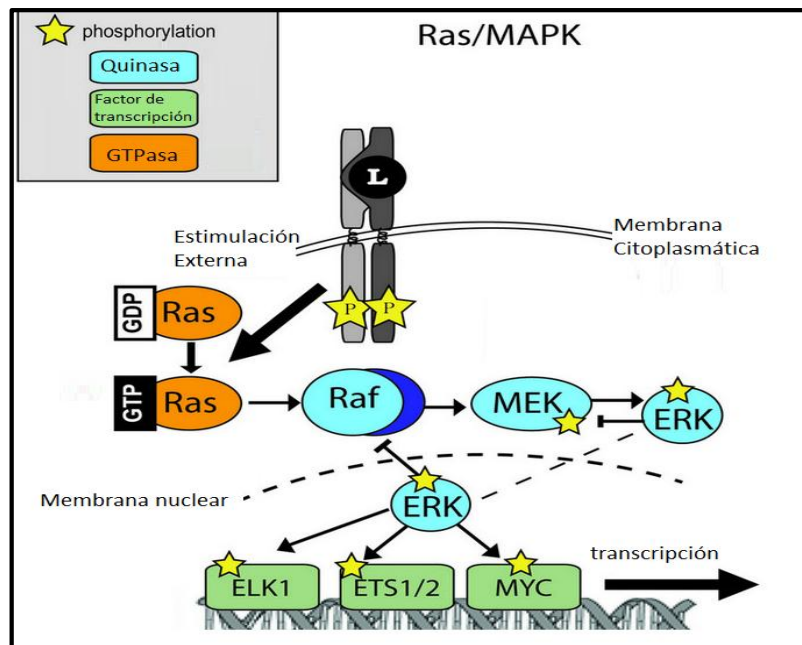


Figura 4: Vía de señalización Ras/ MAPK. Modificado de Rationale for targeting the Ras/MAPK pathway in triple-negative breast cancer³⁵.

4.6. TRATAMIENTO PARA EL CMTN - FARMACOGENÉTICA.

No existe una terapia eficaz para este tipo de cáncer de mama; no obstante, presenta un tratamiento sistémico, los regímenes basados en taxano/antraciclina con una respuesta deficiente^{3, 7}.

Se relacionan 21 quimioterapéuticos empleados en el CMTN y su sitio de acción en la tabla 1.

Tabla 1: Quimioterapéuticos para el CMTN y sus sitios de acción.

BLANCO TERAPÉUTICO	QUIMIOTERAPÉUTICOS
mTOR	Rosiglitazone ¹⁶³ .
TKs	Sorafenib ³¹ , Desatinib ^{79, 163} , Pazopanib ¹⁶³ , Sunitinib ¹⁶³ ,.
ADN	Cisplatino(Platinos) ^{6,163,164} , Ciclofosfamida ¹⁶⁵ , Metotrexato ¹⁶⁶ , Fluorouracilo ¹⁶⁷ , Capecitabine ¹⁶⁸ , Gemcitabina ¹⁶⁹ .
EGFR	Cetuximab ^{7, 163} , Lapatinib ¹⁶³ .
VEGF	Bevacizumab ¹⁶³ .
PARP	Olarparib ¹⁶³ .
ADN- transcripción	Doxorrubicina ^{163, 170} , Epirubicina ^{163,171} .
Microtúbulos	Paclitaxel ¹⁷² , Docetaxel ¹⁷³ , Vinorelbine ¹⁷⁴ , Ixabepilona ¹⁷⁵ .

El INEN tiene en su petitorio los medicamentos Adriamicina, Ciclofosfamida, Paclitaxel, Docetaxel, Metotrexato, Fluorouracilo, Epirubicina, Carboplatino, Capecitabine, Vinorelbine, Gemcitabina, Ixabepilona, en la terapia del CMTN, cuyos usos están supeditados a la la presencia de mutaciones genéticas que alteren su mecanismo de acción o metabolismo⁸. (Ver Apéndice 2: Quimioterapéuticos y genes relacionados.)

4.6.1. Ciclofosfamida

Es un medicamento antitumoral que pertenece al grupo de los agentes alquilantes y se presenta como profármaco, siendo utilizado en gran número de cánceres, entre ellos el de mama y linfomas.

– Farmacocinética:

Al ser un profármaco requiere ser activado mediante el metabolismo por enzimas citocromo 450 (CYP2B6, CYP2A6, CYP2C8, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4, CYP3A5) para obtener los metabolitos 4-hidroxiciclofosfamida y su tautómero aldofosfamida; sin embargo, se forma un metabolito neurotóxico cloroacetaldehído y otro metabolito 3-dicloroetilfosfamida. La aldofosfamida se degrada espontáneamente a los metabolitos activos Acroleína y Mostaza de fosforamida.

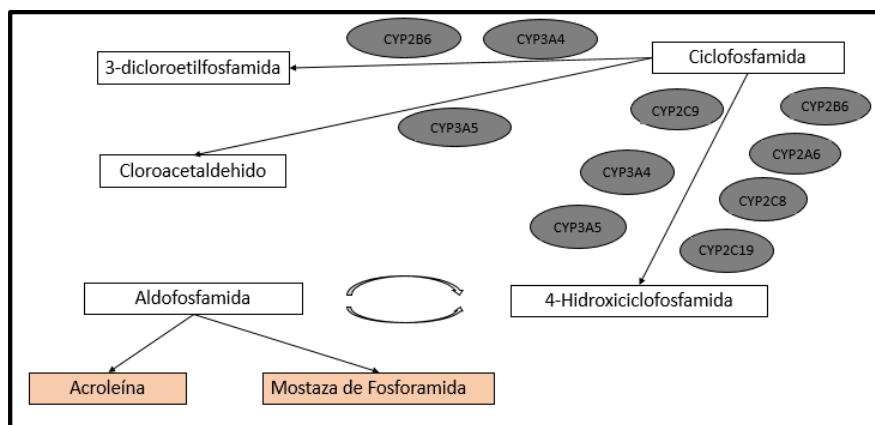


Figura 5: Activación del profármaco Ciclofosfamida. Modificado de Ciclofosfamida - pharmGKB¹⁶⁵.

El metabolismo se produce por acción de las enzimas ALDH1A1A, ALDH3A1, ALDH5A1 mediante reacciones de oxidación y conjugación con el glutatión; se elimina vía renal.

– Farmacodinamia:

Los metabolitos activos Acroleína y Mostaza de fosforamida inducen aductos en el ADN, conduciendo a la muerte celular debido a que superan la actividad de las proteínas reparadoras del ADN (ERCC4, ERCC1, MGMT).

4.6.2. Doxorrubicina

Es un medicamento antitumoral que pertenece al grupo de antraciclínicos, empleado ampliamente en diferentes tipos de cáncer, incluidos: linfomas, mama y ovario.

– **Farmacocinética:**

Ingresa a la célula mediante la proteína transportadora SLC22A16 llevando a cabo su metabolismo por tres mecanismos: **Reducción de 1 electrón**, donde las enzimas oxidoreductoras (NQO1, XDH, NOS1, NOS2, NOS3, NDUFS) producen un compuesto de semiquinona, generando especies reactivas de oxígeno, inhibidas por el glutatión peroxidasa (GPX1), catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD1); **Reducción de 2 electrones**, las enzimas CBR3, CBR1, AKR1C3, AKR1A1 interaccionan con la Doxorrubicina produciendo doxorrubicinol y **Desglucosidación**, las enzimas POR, XDH, NQO1 producen doxorrubicina desoxaglicona y doxorrubicina hidroxaglicona eliminándolas fácilmente.

Los metabolitos y el 50% de Doxorrubicina son exportadas de la célula a través de las proteínas transportadoras (ABCB1, ABCC1, ABCC2, ACG2, RALBP1) eliminándose por vía biliar – heces; sin embargo, un pequeño margen es eliminado por el riñón.

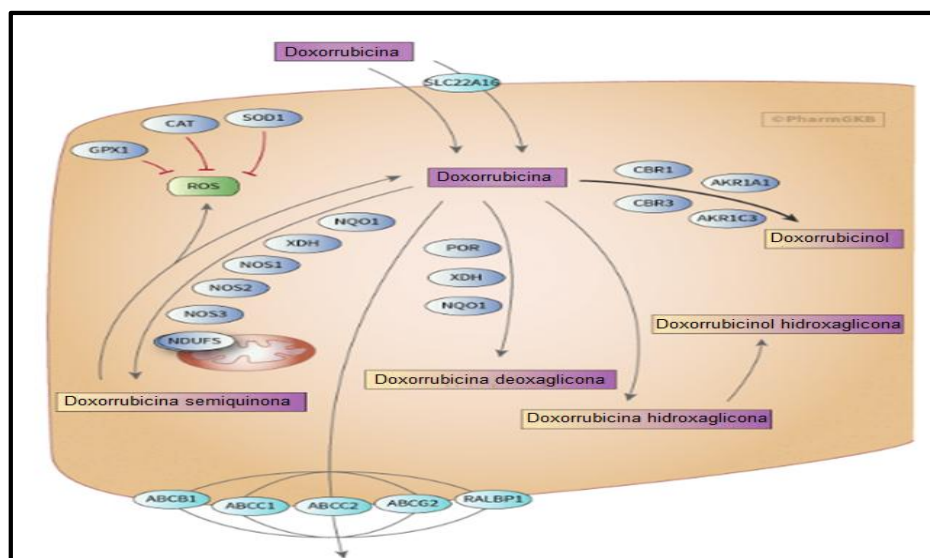


Figura 7: Farmacocinética de Doxorrubicina. Modificado de Doxorrubicina – pharmGKB¹⁷⁰.

– Farmacodinamia:

Presenta dos mecanismos de acción: **Intercalación en el ADN**, inhibe la actividad de la enzima topoisomerasa II (TOP2A), alterando el enrollamiento del ADN y produciendo la muerte celular; **Generación de radicales libres**, por medio de reacciones de oxidoreducción (enzimas XDH, NQO1, NOS3) se degrada la Doxorubicina a una semiquinona, esta última molécula posteriormente es reoxidada a Doxorubicina produciendo especies reactivas de oxígeno y peróxido de hidrógeno, ocasionando estrés oxidativo y peroxidación lipídica, quienes prontamente degradan la membrana, a fin de generar muerte celular.

Sin embargo, ambos mecanismos de acción se encuentran supeditados a la actividad de la proteína supresora TP53 y de reparación del ADN (MDH1, ERCC2, SMH2).

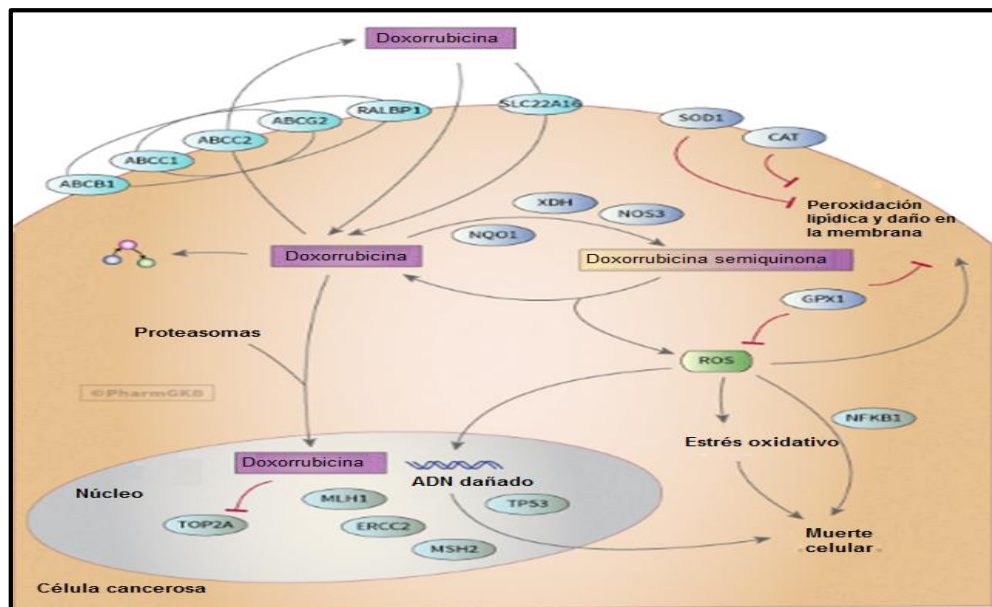


Figura 8: Farmacodinamia de Doxorubicina. Modificado de Doxorubicina – pharmGKB¹⁷⁰.

– Farmacogenética:

Las variaciones genéticas de los genes ABCB1, ABCC1, ABCC2 puede producir una disminución en el efecto de Doxorubicina, de igual manera las variantes genéticas en CYBA, GST1A, NOS3; la variante genética del gen CBR3 disminuye el metabolismo de Doxorubicina a doxorubicinol, de la variación del gen ERCC1 disminuye la reparación del ADN. (Ver Apéndice 2: Quimioterapéuticos y genes relacionados)¹⁷⁰.

4.6.3. Paclitaxel

Es un medicamento antitumoral que pertenece al grupo de los taxanos, siendo utilizado ampliamente en el cáncer de mama, ovario, pulmón, entre otros.

– Farmacocinética:

El Paclitaxel presenta metabolismo hepático mediante las enzimas CYP2C8, CYP3A4 y CYP1B1, siendo eliminado el metabolito hidroxilado y un porcentaje del medicamento sin metabolizar (utilizando las proteínas transportadoras ABCB1, ABCC2, ABCG) por excreción biliar – heces.

– Farmacodinamia:

Ingresa a las células con el transportador SLC01B3 estabilizando los microtúbulos mediante dos mecanismos, la desfosforilación de las proteínas MAP (MAP4, MAP2, MAPT) y la unión a la α -tubulina, bloqueando la división celular, produciendo la muerte celular.

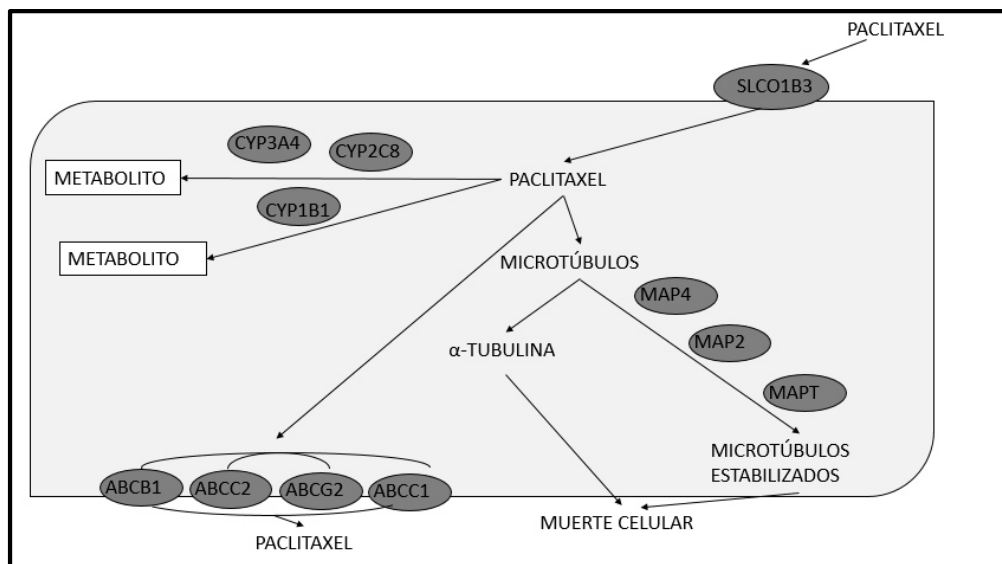


Figura 9: Farmacocinética y farmacodinamia. Modificado de Paclitaxel - pharmGKB¹⁷².

– Farmacogenética:

La variabilidad genética en las enzimas CYP2C8, CYP3A4, CYP1B1 se encuentran relacionado con el metabolismo del Paclitaxel y su toxicidad; la variabilidad genética de la proteína transportadora ABCB1 puede producir resistencia frente a la acción del Paclitaxel. (Ver Apéndice 2: Quimioterapéuticos y genes relacionados)¹⁷².

4.7. GENOMA Y EXOMA HUMANO

El ADN es una molécula biológica que contiene la información genética de un individuo, lo que produce u origina la herencia, y se encuentra formada por bases nitrogenadas denominadas: adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G). El gen es un segmento del ADN que contiene instrucciones para la formación de una proteína y está compuesta básicamente, en eucariotes, por exones (zona codificante de proteínas) e intrones (zona no codificante); el conjunto de todas las bases forma el genoma, siendo ello la suma completa del ADN de un organismo ^{176,177}.

El 1 - 2% del genoma humano está conformado por el exoma o conjunto de exones, cuyo estudio se está convirtiendo en una herramienta estándar para el descubrimiento de genes y variantes subyacentes a enfermedades monogénicas raras, y variantes asociadas con enfermedades comunes, teniendo impacto en la farmacogenómica y toxicogenómica ^{15,178}.

4.8. TECNOLOGÍA PARA EL ANÁLISIS DE EXOMAS

La secuenciación del exoma completo (Whole Exome Sequencing, WES) es la aplicación de la tecnología de alto rendimiento y próxima generación-NGS que nos permite detectar variaciones genéticas en el exoma humano (regiones codificantes). WES tiene una cobertura entre 20 a 25 mil genes, incluyendo a las regiones exónicas y adyacentes (bases intrónicas) en la que se identifican mutaciones, incluso causales ^{179, 180}.

Los desórdenes genéticos se pueden determinar mediante el uso de tecnología de próxima generación y el posterior análisis bioinformático, identificando asociaciones entre una variante (mutaciones conocidas o nuevas) y una enfermedad genética - o con base genética- y con diferentes patrones de herencia, asimismo, se logra evaluar la variabilidad de persona a persona en respuesta al diagnóstico, tratamiento y estrategias de prevención ^{179 -181}.

4.9. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DEL SECUENCIAMIENTO DE EXOMA COMPLETO.

Se define como la aplicación de herramientas computacionales para organizar, analizar, comprender, visualizar y almacenar información asociada a macromoléculas biológicas, en este caso ADN, regiones codificantes o exones, centrándose en la detección de variantes genéticas almacenadas en el formato de llamado de variantes (variant calling format, VCF) a partir de datos de secuencia sin procesar, comparando un gen con un patrón, por ello a menudo se desarrollan nuevas metodologías bioinformáticas y/o herramientas computacionales que permitan obtener mejores resultados^{179, 182}.

4.9.1. Evaluación de calidad de lecturas iniciales o lecturas en bruto (reads):

El control de calidad de los datos en bruto, generados por la tecnología NGS, se realiza antes de analizar la secuencia del exoma, con el objetivo de tener datos adecuados y no afectar las conclusiones obtenidas al finalizar el proceso¹⁸¹.

FastQC: Herramienta que permite analizar el perfil de calidad por base de pequeñas y grandes secuencias obtenidas en archivos de formato FASTQ guardándose en un archivo fastqc_report.html.

Evalúa los siguientes criterios de calidad: estadísticas básicas (nombre y tipo de archivo, codificación, secuencias totales, secuencias filtradas, longitud de secuencia); puntaje de calidad según la escala Phred (marca verde (si es normal), triangulo anaranjado (ligeramente anormal) y cruz roja (muy inusual)); niveles de calidad; contenido de bases nitrogenadas; cantidad de GC; longitud de distribución; duplicados, secuencias sobreexpresadas y Kmers¹⁸³.

4.9.2. Filtrado de lecturas por calidad: El desarrollo de esta etapa dependerá del perfil de calidad de las lecturas obtenidas en el secuenciamiento. Los principales problemas de calidad que se pueden encontrar son secuencias de baja calidad (puntuación Qscore <20), amplificación de secuencias de adaptadores usados en

la preparación de la biblioteca genómica, etc; para esta etapa se puede hacer uso de las herramientas NGS QC Toolkit y Prinseq debido al manejo de archivos tipo FASTQ y 454 (SFF)^{184, 185}.

4.9.3. Alineamiento con el genoma de referencia: En este proceso las lecturas se pueden alinear mediante ensamblaje con las bases de datos de referencia tipo Genome reference consortium (GRC), versiones GRCh37 y GRCh38 o de la Universidad de Santa Cruz (UCSC) que ofrece el hg18 y hg19, para ello se aplican las herramientas Burrows-Wheeler aligner (BWA), Bowtie / Bowtie2, MAQ, mrFAST, Novoalign, SOAP, SSAHA2, Stampy o YOABS.

La alineación de las lecturas se puede almacenar en un archivo de formato de alineación de secuencia / mapeo (SAM), estos archivos luego se convertirán a un formato BAM (versión binaria de SAM) empleando algunas herramientas como TileQC, SolexaQA, PIQA, SAMtools o GATK.

Estas herramientas también permiten el filtrado de las lecturas no mapeadas correctamente y las de baja calidad en el alineamiento^{184, 185, 186}.

4.9.4. Ordenamiento de las lecturas mapeadas: Consiste en clasificar lecturas basadas en coordenadas genómicas e índice de calidad Phred permitiendo preparar la data para su posterior visualización. Este proceso se puede llevar a cabo aplicando o utilizando las herramientas SAMtools, Picard– SortSam, Slider o Slider II¹⁸⁴.

4.9.5. Marcar duplicaciones: Se eliminan los duplicados de PCR originados por artefactos durante la amplificación o por lecturas de dos o más copias idénticas al fragmento de ADN original. Esta etapa permite obtener lecturas mapeadas de alta calidad utilizando las herramientas SAMtools, Picard-Mark Duplicates, entre otros^{184, 185}.

4.9.6. Ajuste de alineamiento: Es un factor clave para evitar algún artefacto durante la detección de variantes. Se realiza un realineamiento local de los pares de bases, generando un valor recalibrado de calidad de mapeo, eliminando las variantes de tipo falsos positivos y proporcionando una mayor robustez al análisis

bioinformático, para ello se considera utilizar las herramientas SAMtools-mpileup, GATK-recalibrator, Slider o Slider II¹⁸⁴.

4.9.7. Visualización del alineamiento: Las lecturas alineadas se cargan y visualizan en conjunto con la secuencia del genoma de referencia; brindando una interfaz gráfica, visualización de las mutaciones (SNVs, deleciones e inserciones), búsqueda rápida de lecturas mediante posiciones de interés, además de visualizar la cobertura de la variante. Se emplean 3 tipos de herramientas: Interpretadores de datos de secuencias nuevas o re-secuencias, exploradores del genoma y visores comparativos; algunos ejemplos son el Integrative genomic viewer (IGV), TileQC, SolexaQA, PIQA, SAMtools y GATK^{184, 185}.

4.9.8. Llamado de las variantes: Se identifican los sitios en el exoma en estudio que difieren del genoma de referencia, almacenándose en un archivo de formato VCF (variant call format); esta etapa permite obtener el perfil mutacional del individuo a través de la detección de las variantes genéticas (SNP = polimorfismos de un solo nucleótido, INDEL = inserción y delección) y determinar el genotipo de cada sitio o ubicación genómica de la variante en la muestra.

Se ejecuta mediante las herramientas VarScan, VarDict, CRISP, GATK, Haplotype Caller, SAMtools, SNVer, entre otros¹⁸⁵.

4.9.9. Anotación y filtrado de las variantes: En el análisis de secuenciación del exoma se obtiene un gran volumen de variantes, es decir, se incrementa la información biológica-funcional de las variantes según las bases de datos disponibles. Para ello se hace uso de herramientas como Variant effect predictor (VEP), SnpEff, SnpSift, ANNOVAR, SeattleSeq, NGS – SNP, VARIANT, Mercury, mGene.ngs o AnnTools.

La información proporcionada se integra en un archivo con información de la ubicación y nombre del gen, identificación y tipo de variante, el impacto en las proteínas, los efectos biológicos.

El filtrado de las variantes se realiza tomando como base un panel de genes diseñados para el estudio y se procesa mediante el desarrollo de un script

personalizado, modificando el archivo con formato de llamado de variantes (VCF) inicial hasta conseguir el panel optimizado que se almacena en un archivo de formato csv para su posterior análisis^{184, 185}.

5. METODOLOGÍA

5.1. Muestra:

Paciente mujer con diagnóstico de cáncer de mama triple negativo ubicado en la mama izquierda, proveniente de una clínica particular, se le tomó muestra de sangre con vacutainer.

5.2. Secuenciación del Exoma:

5.2.1. Preparación de muestra:

Extracción de ADN genómico con kit comercial.

Se utilizó un reactivo comercial para aislamiento de ADN, genomic DNA purification kit marca Thermo scientific.

En un tubo Eppendorf se mezcló 400uL de la muestra de sangre total con 400uL de solución de lisis, incubándose a 65°C por 10 min. A continuación, se emulsificó empleando 500uL de cloroformo, mezclado por inversión y centrifugando a 10000 rpm por 2min. Posteriormente, la fase acuosa fue transferida a otro tubo con 400uL de solución precipitante (360uL agua estéril + 40uL solución de precipitación 10x) recién preparada, mezclándose por inversión 1-2min y centrifugando a 10000 rpm por 2 min. El sobrenadante (pellet de ADN) se disolvió en 50uL de NaCl_{ac}, adicionándose 150uL de etanol absoluto helado para refrigerar a -20°C por 10min, finalmente un spin down a 10000 rpm por 3-4min, se removió el etanol y se dejó secando el pellet.

El ADN fue disuelto en 50uL de agua desionizada estéril, se comprobó su calidad corriendo en gel de agarosa al 1.5%, cuantificado en fluorómetro Qubit (concentración=40ng/uL) y llevado a refrigeración hasta su uso.

5.2.2. Construcción de biblioteca/librería para secuenciamiento.

Se utilizaron los reactivos del kit SureSelectXT (Illumina) para preparar la librería o biblioteca de secuenciación, fragmentando aleatoriamente la muestra de ADN seguida de la ligación del adaptador en los extremos 5' y 3'. El "etiquetado o

marcaje" permitió el desarrollo de las reacciones de fragmentación y ligación en una sola etapa, aumentando considerablemente la eficiencia del proceso de preparación de la biblioteca.

Posteriormente, los fragmentos ligados con el adaptador fueron amplificados por PCR.

5.2.3. Secuenciamiento

Para el secuenciamiento que permite la generación de agrupamientos, la biblioteca genómica se carga en una celda de flujo donde los fragmentos se capturan en un soporte de oligos unidos a superficies complementarias a los adaptadores de la biblioteca. Inmediatamente, cada fragmento se amplifica en grupos clónicos distintos a través de la amplificación tipo puente. Después de ser completada el clúster se desarrolla la secuenciación.

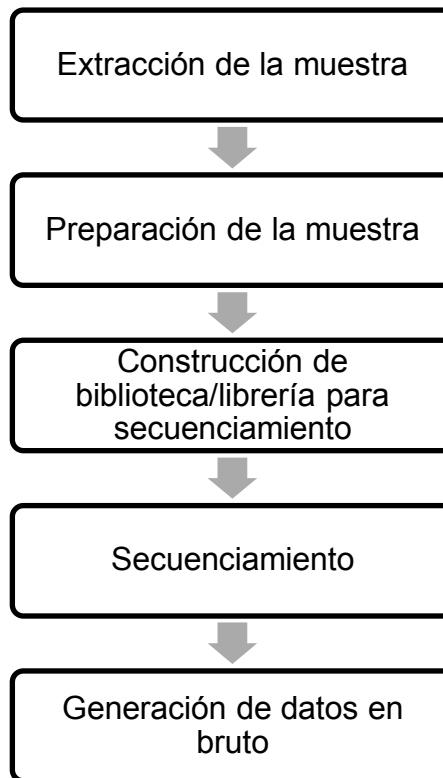
Se utilizó la tecnología Illumina SBS, basada en un terminador reversible, detectando bases individuales a medida que se incorporaron en las hebras de la plantilla de ADN y observándose constantemente los 4 dNTPs durante cada ciclo; finalmente se obtuvo una secuenciación de base por base (ver Anexo 1: Información del secuenciamiento de exoma).

5.2.4. Generación de datos en bruto

El secuenciador Illumina generó imágenes en bruto utilizando el software de análisis primario integrado - RTA (análisis en tiempo real) para el control del sistema y las llamadas de base.

El archivo binario BCL (llamadas de las bases) se convirtió a FASTQ utilizando el paquete bcl2fastq de Illumina (Ver Anexo 2: Estadística de datos en bruto).

FLUJOGRAMA DE TRABAJO



5.3. Análisis bioinformático.

El análisis bioinformático consistió en el diseño, ejecución y optimización de un flujo de trabajo, reuniendo paquetes bioinformáticos para la creación de un pipeline personalizado de análisis de datos de exomas completos. El proceso bioinformático desarrollado se detalla de la siguiente manera:

5.3.1. Análisis Bioinformático Base:

Este análisis base se inició con la evaluación de calidad con la herramienta FastQC de lecturas brutas generadas en la etapa de secuenciación del exoma, posteriormente se realizó el filtrado de lecturas de acuerdo a su calidad haciendo uso de la herramienta Trim galore.

Las lecturas se alinearon con el genoma humano de referencia GRCh37 / hg19 utilizando la herramienta Bowtie 2 almacenándose en un archivo de formato SAM convirtiéndose luego en formato BAM con la herramienta SAMtools, se prosiguió con el ordenamiento de las lecturas mapeadas con la misma herramienta, se marcaron y eliminaron duplicaciones producidas en PCR con la herramienta Picard-MarkDuplicates, asimismo para el ajuste de alineamiento se realizó un realineamiento local mediante la herramienta GATK.

Se visualizaron las lecturas alineadas juntamente con la secuencia de referencia con la herramienta Integrative genomic viewer (IGV), seguidamente el llamado de las variantes con la herramienta VarDict almacenándose en un formato de llamado de variantes (VCF) para finalmente ser anotados y filtrados mediante la aplicación independiente de dos herramientas: Variant effect predictor (VEP) o SnpEff.

Se evaluó el posible efecto de la variación genética en la estructura y función de las proteínas con la herramienta PolyPhen evaluando si son benignas o probablemente dañinas, tanto en genes de susceptibilidad como de respuesta a las drogas utilizadas para el tratamiento del CMTN^{185,193,195,200,208}.

5.3.2. Pasos para la propuesta de optimización del análisis bioinformático:

La propuesta de proceso de optimización se inició con la evaluación de calidad con la herramienta FastQC de lecturas brutas, posteriormente el filtrado de lecturas de acuerdo a su calidad haciendo uso de las herramientas Trim galore y Prinseq, este último incluido como complemento.

Las lecturas se alinearon con el genoma humano de referencia GRCh37 / hg19 utilizando la herramienta Burrows-Wheeler aligner (BWA) almacenándose en un archivo de formato SAM convirtiéndose luego en formato BAM valiéndose de la herramienta SAMtools, se prosiguió con el ordenamiento de las lecturas mapeadas con la misma herramienta, se marcaron y eliminaron las duplicaciones la herramienta Picard-MarkDuplicates, asimismo para el ajuste de alineamiento se

realizó un realineamiento local mediante la herramienta SAMtools-mpileup en lugar de GATK.

Las lecturas alineadas juntamente con la secuencia de referencia se visualizaron en la herramienta Integrative genomic viewer (IGV), seguidamente el llamado de las variantes se llevó a cabo ahora empleando la herramienta VarScan, en lugar de VarDict, almacenándose en un formato de llamado de variantes (VCF) para finalmente ser anotados y filtrados mediante el resultado consenso de las herramientas Variant effect predictor (VEP) más SnpEff, y además del uso de SnpSift, debido al gran volumen de variantes encontradas.

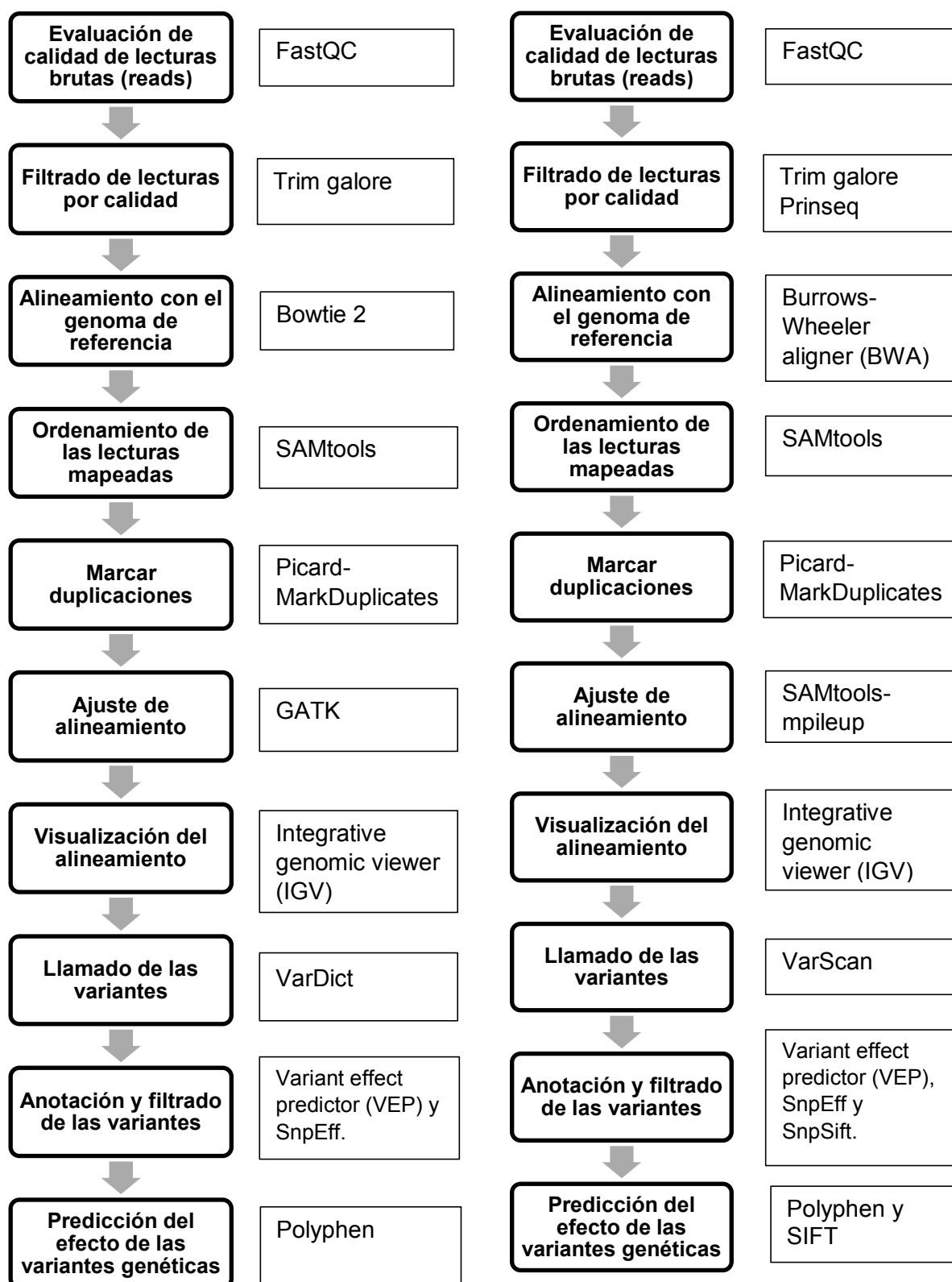
Se evaluó el posible efecto de la variación genética en la estructura y función de las proteínas con las herramientas PolyPhen y SIFT para mejorar la evaluación de las variantes tanto si son benignas o probablemente dañinas, o si son deletéreas o tolerables, tanto en genes de susceptibilidad y en genes de respuesta a las drogas empleadas en el tratamiento del CMTN.

Las variantes fueron filtradas en base a los siguientes criterios de priorización: (a) frecuencia alélica superior al 0.1% con respecto a las bases de datos de control (ExAC, GnomAD y 1000 Genomes Project, dbSNP); (b) exclusión de variantes de baja calidad, es decir con cobertura inferior a 10X; (c) selección de las variantes ubicadas en las regiones del exón o intrón que afectan el empalme de ARN; (d) variantes patogénicas basadas en el umbral de patogenicidad mediante los algoritmos (SIFT, PolyPhen-2), prediciendo posibles efectos nocivos o perjudiciales sobre la función de la proteína.

FLUJOGRAMA DEL ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO

Análisis bioinformático base^{185,193,195,200,208}.

Análisis bioinformático optimizado:



5.4. Aspectos éticos:

La paciente participa en el estudio luego de firmar el consentimiento informado (Ver Anexo 3: Consentimiento informado). El diseño de investigación fue aprobado por el comité de ética y de investigación de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

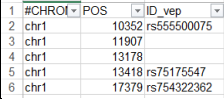

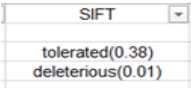
6. RESULTADOS

6.1. Datos de la paciente

Paciente mujer de 45 años con antecedente de proceso fibroquístico, cáncer de mama izquierdo forma-tipo portadora de triple negativo, sometida a mastectomía radical izquierda el 01/03/2008; luego de recibir quimioterapia con Adriamicina, Ciclofosfamida y Paclitaxel pasa a controles y sin evidencia de recaída a la enfermedad en el momento que se tomó la muestra de sangre el 12-01-2017.

6.2. Análisis bioinformático del exoma de la paciente con CMTN.

Tabla 3: Comparación de etapas entre el análisis bioinformático base y optimizado.

ETAPA	Análisis bioinformático base.	Análisis bioinformático optimizado.	Comentario.
Filtrado de lecturas por calidad	Trim galore	Trim galore y Prinseq	El análisis que incluye además el software Prinseq mejora la calidad del filtrado ¹⁹² .
Alineamiento con el genoma de referencia.	Bowtie 2	Burrows-Wheeler aligner (BWA)	El BWA mejora la calidad del alineamiento, con genoma humano de referencia hg19, debido a un mayor mapeo de las lecturas cortas ^{194,195} .
Ajuste de alineamiento.	GATK.	SAMtools-mpileup	El SAMtools-mpileup, respecto al GATK, permite identificar una mayor cantidad de <i>indels</i> ¹⁹⁸ .
Llamado de variantes.	VarDict.	VarScan	VarScan detecta más variantes genéticas totales en comparación con el VarDict ²⁰⁹ .
Anotación y filtrado de variantes.	Variant Effect Predictor (VEP) y SnpEff. (probados de manera independiente) 	Variant effect predictor (VEP), SnpEff y SnpSift.	El consenso de VEP y SnpEff permite definir los rs de las variantes conocidas, y la inclusión de la herramienta SnpSift mejora el filtrado de las variantes, disminuyendo los falsos positivos ^{210,211,212} .
Predicción del efecto de las variantes genéticas en las proteínas.	Polyphen 2 	Polyphen y SIFT 	El SIFT evalúa <i>in silico</i> el grado de deletéreo de la variante en la proteína y el Polyphen el probable daño generado. Con ambas se tiene mayor certeza en la predicción del efecto ²¹³ .

6.2.1. Evaluación de la calidad de lecturas para el análisis bioinformático.

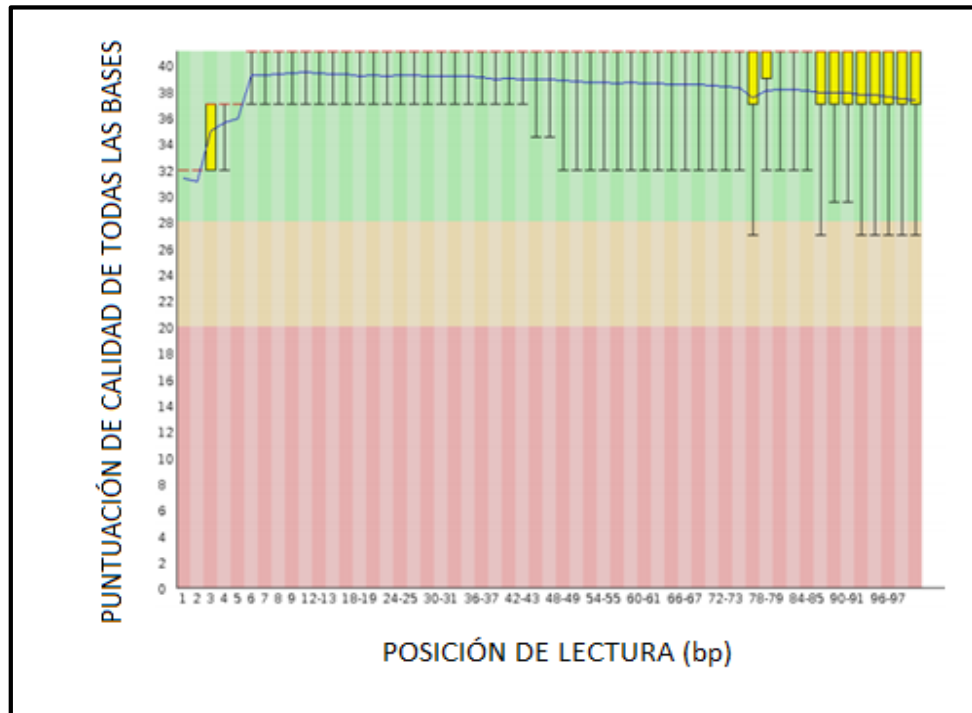


Figura 10: Se observó que la muestra se encuentra dentro de la zona verde, indicador de alta calidad mediante el uso de la herramienta FastQC.

Descripción:

- Línea roja central: valor de la mediana
- Cuadros amarillos: rango intercuartil (25 -75%)
- Líneas negras superiores e inferiores: 10 – 90% de puntos
- Línea azul: calidad media
- Zonas:
 - Verde: alta calidad
 - Anaranjada: moderada calidad
 - Roja: baja calidad

6.2.2. Visualización del alineamiento de lecturas en el análisis bioinformático.

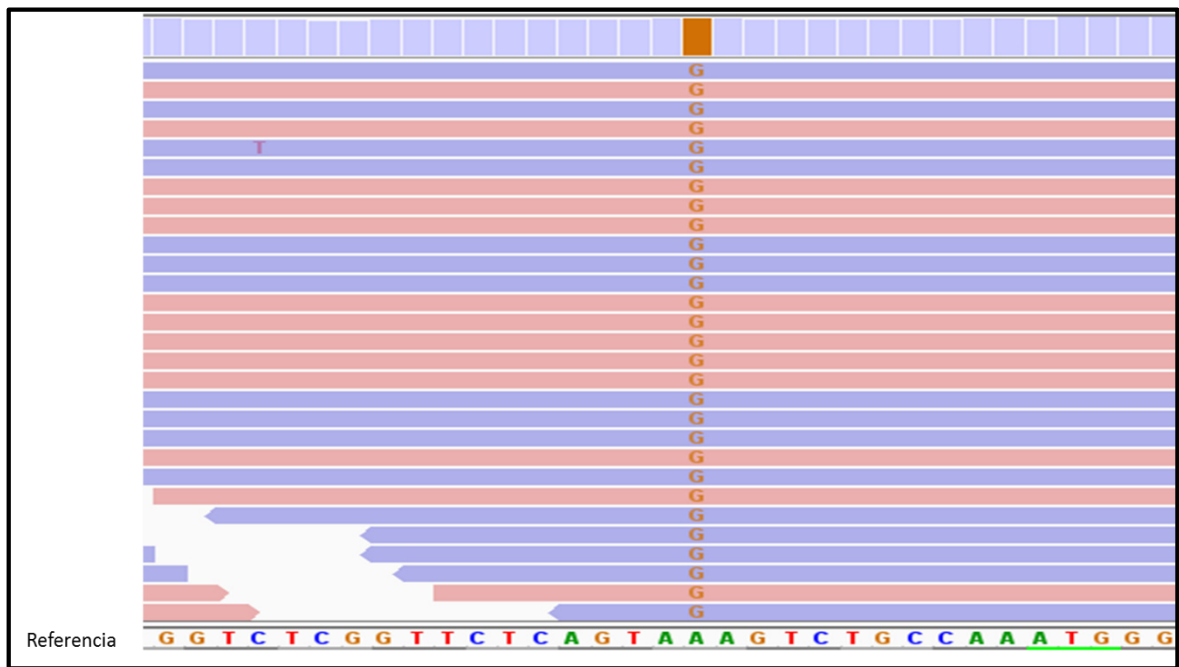
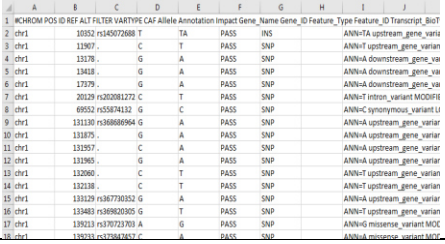
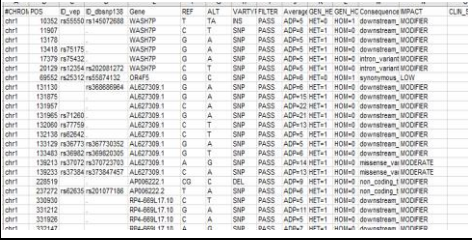


Figura 11: Se observó los datos de la alineación de lecturas haciendo uso de la herramienta Integrative genomic viewer IGV.

Descripción: A: Adenina, C: Citosina, G: Guanina, T: Timina

6.2.3. N° de variantes genéticas encontradas en la paciente.

Tabla 4: Comparación del N° de variantes genéticas encontradas en el análisis bioinformático base y el optimizado.

	Análisis bioinformático base.		Análisis bioinformático optimizado.	
LECTURA				
	El análisis bioinformático optimizado presenta mayor información de los genes reportados.			
VARIANTES GENÉTICAS TOTALES (Después de anotación y filtrado)	229907		221672	
Variantes de alto impacto clínico	718		718	
	CÁNCER DE MAMA	CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO	CÁNCER DE MAMA	CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO
Variantes genéticas específicas totales	38	44	38	44
Variantes patogénicas	1	1	1	1
Variantes de significado incierto (VUS)	0	1	0	1
Variantes novels	0	0	17 *	20 *
Variantes tipo splice	11	19	11	19
Variantes tipo splice y novels	0	0	5 *	5 *
Variantes genéticas de respuesta a drogas.	4		4	

* El análisis bioinformático optimizado, en lo referente a anotación y filtrado de variantes, permite identificar los rs de las variantes conocidas y, por tanto, determinar la presencia de variantes nuevas (noveles) al no encontrarse reportadas en las bases de datos de referencia.

6.3. Análisis de variantes genéticas con alto impacto en la paciente

Tabla 5: Variantes genéticas de alto impacto relacionadas con el CMTN en la paciente.

Se obtuvo en la paciente un total de 44 variantes genéticas de alto impacto (*TP73*, *FOXO3*, *PRSS3*, *TET1*, *PRDX2*, *NOTCH2*, *TAP2*, *DACT2*, *KMT2C*, *CREB3L1*, *VDR*, *PARN*, *PIK3R3*, *TTN*, *ROBO2*, *PCDH7*, *EGF*, *ACSL1*, *HLA-A*, *ESR1*, *PSPH*, *LIMK1*, *FOXP2*, *PCSK5*, *SNCG*, *MARCH5*, *NCR3LG1*, *CASP12*, *CASP5*, *TMPRSS4*, *SMPD1*, *KMT2D*, *LGR5*, *ORAI1*, *HERC1*, *PDPK1*, *IL32*, *EEF2K*, *CDC27*, *PPP1R9B*, *TMPRSS3*, *GGT1*, *HDAC8*, *NXF2*.) relacionadas con el CMTN (cáncer de mama triple negativo). A continuación, se desarrollan según su ubicación en el cromosoma:

Nº	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
1	Chr1	TP73	p.Tyr240*	stop_gained	Produce mimetismo vasculogénico en el CMTN ³⁶ . <i>Oncogén.</i>
2	Chr1	PIK3R3	p.Lys365*	stop_gained	Regula la actina del citoesqueleto y genera migración celular en el CMTN ⁴⁰ .
3	Chr1	NOTCH2	-----	splice_acceptor_variant	Su expresión se encuentra disminuida en el CMTN debido a inhibir el crecimiento tumoral ^{44, 188} .
			p.Pro6fs	frameshift_variant	
4	Chr2	TTN	p.Tyr260 66*	stop_gained	Se presenta con recurrencia en el CMTN ⁶³ .
			-----	splice_acceptor_variant	
5	Chr3	ROBO2	p.Gly33*	stop_gained	Inhibe la migración de células tumorales en el CMTN mediante la fosforilación de la proteína que controla la división celular ⁶⁹ .
6	Chr4	PCDH7	p.Gln641*	stop_gained	Desarrolla metástasis cerebral en el CMTN empleando la vía de señalización Wnt ⁷⁸ .
7	Chr4	EGF	-----	splice_donor_variant	Interviene en el crecimiento tumoral en el CMTN a través de la vía de señalización PI3K/AKT ^{83, 84} .

Tabla 5 (continuación).					
Nº	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
8	Chr4	ACSL1	-----	splice_donor_variant	Promueve la producción de lípidos citoplasmáticos e inhibe la fosforilación oxidativa disminuyendo la metástasis y proliferación celular en el CMTN ⁹¹ .
9	Chr6	HLA-A	p.Leu180*	stop_gained	La pérdida de estas proteínas se relaciona con metástasis de células cancerígenas en el CMTN ^{22, 93} .
			p.Asp251fs	frameshift_variant	
10	Chr6	TAP2	p.Ter687Glnext*?	stop_lost	
11	Chr6	FOXO3	p.Leu382fs	frameshift_variant	Activa la migración y proliferación de células tumorales en el CMTN ¹⁷ . <i>Oncogén</i> .
12	Chr6	DACT2	p.Glu614*	stop_gained	Proteína supresora de células cancerígenas al revertir la EMT (transición de epitelio a tejido mesenquimal) en el CMTN ¹⁵⁵ . <i>Gen supresor</i>
13	Chr6	ESR1	p.Tyr54*	stop_gained	Activa las vías de señalización PI3K /AKT/ mTORC1 o HDAC (histona deacetilasa) en el CMTN ^{161, 162} . <i>La mutación del gen inhibe su actividad.</i>
14	Chr7	PSPH	-----	splice_donor_variant	Permite la progresión de células cancerígenas en el CMTN al producir serina relacionada al metabolismo de glicina ¹⁵⁶ .
15	Chr7	LIMK1	-----	splice_acceptor_variant	Promueve la invasión y progresión de células cancerígenas en el CMTN mediante la fosforilación e inactividad de la cofilina ¹⁵⁷ .
16	Chr7	FOXP2	p.Gln232 del	splice_acceptor_variant&intron_variant	Asociada a la invasión y crecimiento de células cancerígenas al modular las proteínas reguladas por glucosa en el CMTN ⁹⁵ .

Tabla 5 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
17	Chr7	KMT2C	p.Lys279fs	frameshift_variant	En el CMTN la proteína se encuentra disminuida en su expresión ⁴⁷ . <i>Gen supresor.</i>
			p.Tyr816fs	stop_gained&frameshift_variant	
			p.Lys724*	stop_gained	
			p.Cys391*	stop_gained	
			-----	splice_acceptor_variant	
18	Chr9	PCSK5	c.1811C>G	stop_gained	Aumenta la invasión y metástasis celular en el CMTN al disminuir el factor de diferenciación de crecimiento ¹⁰⁰ .
19	Chr9	PRSS3	p.Glu3fs	frameshift_variant	Tiene implicancia en el desarrollo y progresión del CMTN, hallándose sobre expresada ²⁰ . <i>Oncogén.</i>
			p.Gln113*	stop_gained	
			-----	splice_donor_variant	
			p.Arg158fs	frameshift_variant	
			p.Thr160fs	frameshift_variant	
			p.Trp279*	stop_gained	
20	Chr10	TET1	c.2895C>A	stop_gained	Desencadena hipometilación del ADN y proliferación celular en el CMTN valiéndose de la vía de señalización PI3K-AKT-mTOR ²⁷ . <i>Oncogén</i>
21	Chr10	SNCG	p.Ter127Cysext*?	stop_lost	Confiere resistencia a la radioterapia en pacientes con CMTN ¹⁰³ .
22	Chr10	MARCH5	p.Glu162*	stop_gained	Proteína que se encuentra sobre expresada en el CMTN ¹⁰⁴ .
23	Chr11	NCR3LG1	p.Leu449fs	frameshift_variant	Interviene en la proliferación y migración celular del CMTN disminuyendo la apoptosis ¹¹¹ .
24	Chr11	CREB3L1	-----	splice_donor_variant	En el CMTN disminuye la proliferación y metástasis celular ¹¹² . <i>Gen supresor</i>
			p.Asp509fs	splice_acceptor_variant	
25	Chr11	CASP12	-----	splice_donor_variant	Se pueden encontrar como predictor de CMTN ¹¹⁴ .
			p.Arg125*	stop_gained	
26	Chr11	CASP5	p.Arg23fs	frameshift_variant	

Tabla 5 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
27	Chr11	TMPRSS4	-----	splice_acceptor_variant	Promueve la metástasis en los ganglios linfáticos en el CMTN al inducir la transición de epitelio a tejido mesenquimal ¹¹⁵ .
28	Chr11	SMPD1	p.Lys189fs	frameshift_variant	Se asocia a una mayor progresión de células cancerígenas en el CMTN mediante el aumento de ceramida ¹⁵⁹ .
29	Chr12	VDR	p.Met1?	start_lost	Previene la progresión de carcinogénesis hacia el CMTN ¹¹⁹ . <i>Gen supresor</i>
30	Chr12	KMT2D	-----	splice_acceptor_variant	Disminuye la invasión y migración celular en el CMTN ¹²⁰ .
31	Chr12	LGR5	-----	splice_donor_variant	Permite el desarrollo de metástasis en ganglios linfáticos en el CMTN debido a la activación de la vía de señalización Wnt/ β -catenina ¹²⁴ .
32	Chr12	ORAI1	p.Pro45fs	frameshift_variant	Promueve la invasión celular y la angiogénesis del CMTN al inducir la vía de señalización Notch1 y el aumento de Ca^{+2} intracelular ¹²⁵ .
33	Chr15	HERC1	-----	splice_acceptor_variant	Inhibe a la proteína supresora de tumor TSC2 en el CMTN por medio de la vía de señalización mTOR ¹²⁷ .
34	Chr16	PDPK1	p.Leu428*	stop_gained	Permite la proliferación celular del CMTN empleando la vía de señalización PI3K-AKT ^{32, 129} .
35	Chr16	IL32	p.Asp218fs	frameshift_variant	Proteína que se encuentra sobre expresada en el CMTN ²⁴ .
36	Chr16	PARN	p.Met1?	start_lost	Se presenta disminuido en el CMTN y presenta un mecanismo de acción desconocido ¹³⁰ . <i>Gen supresor.</i>

Tabla 5 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
37	Chr16	EEF2K	p.Gln660*	stop_gained	Induce la proliferación, migración e invasión de células cancerígenas del CMTN regulando la vía de señalización PI3K/AKT, ciclina D1, Src/Fak y IGFR ¹³¹ .
38	Chr17	CDC27	p.Arg631*	stop_gained	Mayor respuesta a la radioterapia en el CMTN al modular el complejo promotor de anafase ¹³⁷ .
			p.Gly512fs	frameshift_variant	
			p.Leu298*	stop_gained	
			p.Leu254*	stop_gained	
			p.Lys169*	stop_gained	
39	Chr17	PPP1R9B	p.Ala165fs	splice_acceptor_variant&frameshift_variant	Se observa un mal pronóstico y mayor agresividad del CMTN, debiéndose posiblemente al aumento de la proteína de riboblastoma ¹³⁸ .
			p.Gly159fs	splice_acceptor_variant&frameshift_variant	
40	Chr19	PRDX2	-----	splice_acceptor_variant&intron_variant	Se desarrolla metástasis pulmonar y protección de las células cancerígenas del estrés oxidativo en el CMTN ^{145,146} . <i>Oncogén</i>
41	Chr21	TMPRSS3	-----	splice_acceptor_variant	Posibilita la invasión celular al interactuar con el receptor del factor de crecimiento epidérmico y permite la resistencia al Trastuzumab en el CMTN ¹⁴³ .
42	Chr22	GGT1	-----	splice_donor_variant	Proteína sobre expresada en el CMTN ¹⁵⁰ .
43	ChrX	HDAC8	p.Tyr111*	stop_gained	Relacionada a la migración, proliferación, diferenciación e invasión del CMTN mediante la regulación de la vía Hippo-YAP ¹⁵¹ .
44	ChrX	NXF2	-----	splice_donor_variant	En el CMTN raras veces se presentan mutaciones ¹⁵² .

Tabla 6: Variantes genéticas de alto impacto relacionadas con el cáncer de mama en la paciente.

Se identificaron 38 variantes genéticas de alto impacto (*KIF3C*, *PEBP4*, *MPP2*, *ITIH5*, *CTBP2*, *NCOR1*, *DNM3*, *TEKT4*, *MLH1*, *DVL3*, *CYFIP2*, *HLA-DRB1*, *HLA-DQB1*, *SRRM3*, *MAL2*, *ADCK5*, *MUC6*, *MUC2*, *MUC5B*, *PANX1*, *FLI1*, *VWF*, *MUC19*, *STAT2*, *LRP1*, *USP15*, *SIX1*, *SYNM*, *DHX8*, *ATXN7L3*, *ABCC3*, *STXBP4*, *ALOX12B*, *EPOR*, *CRTC1*, *KMT2B*, *CYP2A6*, *ARHGEF6*.) en la paciente, relacionados con el cáncer de mama y se describen en la siguiente tabla según su ubicación en el cromosoma:

N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
1	Chr1	DNM3	p.Glu308*	stop_gained	Relacionada a la migración de células cancerígenas de mama ⁵⁷ .
2	Chr2	KIF3C	-----	splice_acceptor_variant	Se observa metástasis y proliferación del cáncer de mama al inducir la fase G2/M de la mitosis ⁶⁰ . <i>Oncogén</i>
3	Chr2	TEKT4	-----	splice_acceptor_variant	Produce resistencia al Paclitaxel en el cáncer de mama ⁶¹ .
			p.Arg380*	stop_gained	
4	Chr3	MLH1	p.Tyr283*	stop_gained	En el cáncer de mama se encuentra ligada a la mutación del BRCA1/2 ⁶⁴ .
5	Chr3	DVL3	p.Gln38*	stop_gained	Aumenta el número de células cancerígenas de mama al activar la vía de señalización Wnt/ β -catenina ²⁹ .
6	Chr5	CYFIP2	p.Arg95fs	frameshift_variant	Mayor supervivencia de la paciente con cáncer de mama ⁹² .
7	Chr6	HLA-DRB1	p.Ala103fs	frameshift_variant	Se encuentra presente en el cáncer de mama ⁹⁴ .
			p.Arg101fs	frameshift_variant	
			p.Gln39*	stop_gained	
			p.Trp38*	stop_gained	
			-----	splice_donor_variant	
			p.Gly9fs	frameshift_variant	
8	Chr6	HLA-DQB1	p.Glu106*	stop_gained	Proporciona protección contra el riesgo de adquirir cáncer de mama ⁹⁴ .
9	Chr7	SRRM3	p.Arg580fs	frameshift_variant&splice_region_variant	Promueve la invasión de células cancerígenas de mama al disminuir la proteína silenciadora de la transcripción del elemento represor-1 (REST) ¹⁵⁸ .

Tabla 6 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
10	Chr8	PEBP4	p.Asn220fs	frameshift_variant	Permite la proliferación y migración celular en el cáncer de mama sirviéndose de la vía de señalización PI3K/AKT ⁹⁶ . <i>Oncogén.</i>
11	Chr8	MAL2	p.Val23fs	frameshift_variant&splice_region_variant	Se encuentra sobre expresada en el cáncer de mama y podría tener relación con la glicoproteína de membrana mucina 1 y la proteína tumoral D52 ⁹⁷ .
12	Chr8	ADCK5	-----	splice_donor_variant&coding_sequence_variant&intron_Variant	Se encuentra sobre expresada en el cáncer de mama ⁹⁸ .
13	Chr10	ITIH5	p.Asp933fs	frameshift_variant	Reprograma y suprime a las células madre cancerígenas de mama ¹⁰² . <i>Gen supresor</i>
14	Chr10	CTBP2	p.Gln985*	stop_gained	Represor transcripcional dependiente de NADH observado en el cáncer de mama ^{105,106} . <i>Gen supresor</i>
			p.Lys974fs	frameshift_variant	
			p.Gln971fs	frameshift_variant	
			p.Glu758*	stop_gained	
			p.Cys664*	stop_gained	
			p.Leu627fs	frameshift_variant	
			p.Arg582fs	frameshift_variant	
			p.Arg573fs	frameshift_variant	
			p.Arg13*	stop_gained	
			p.Lys8*	stop_gained	
15	Chr11	MUC6	p.Tyr1920*	stop_gained	Posibilita la invasión linfática de células cancerígenas de mama ^{107,109} .
			p.Ser1696*	stop_gained	
16	Chr11	MUC2	p.Pro1713Thr	start_lost	Se encuentra sobre expresado en el cáncer de mama ^{107,109} .
			p.Pro1713Leu	start_lost	
17	Chr11	MUC5B	p.Cys666*	stop_gained	Se expresa en el cáncer de mama invasivo e in situ ¹⁰⁷⁻¹¹⁰ .
18	Chr11	PANX1	p.Glu323*	stop_gained	Aumenta los canales de ATP para promueve la supervivencia y metástasis pulmonar de células cancerígenas de mama ¹¹³ .

Tabla 6 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
19	Chr11	FLI1	p.Glu308*	stop_gained	Inhibe la migración e invasión celular al aumentar la codificación de la proteína inhibidora de quinasa dependiente de ciclina en el cáncer de mama ¹¹⁶ .
20	Chr12	VWF	p.Tyr1146*	stop_gained	Disminuye la metástasis y angiogénesis de células cancerígenas de mama ¹¹⁷ .
21	Chr12	MUC19	-----	splice_acceptor_variant	Suscita la proliferación e invasión de células cancerígenas de mama ¹¹⁰ .
22	Chr12	STAT2	-----	splice_donor_variant	Permite la proliferación, migración e invasión de células cancerígenas de mama incrementando la codificación de la proteína 1 de transmembrana inducida por interferón ¹²¹ .
23	Chr12	LRP1	p.Pro4192fs	frameshift_variant	Induce la progresión de células cancerígenas de mama ¹²² .
24	Chr12	USP15	p.Tyr376*	stop_gained	Promueve la invasión de células cancerígenas de mama ¹²³ .
25	Chr14	SIX1	p.Met1?	start_lost	Relacionado al mal pronóstico de la paciente con cáncer de mama ¹²⁶ .
26	Chr15	SYNM	-----	frameshift_variant&splice_region_variant&intron_variant	Se observa en el cáncer de mama de tipo invasivo ¹²⁸ .
27	Chr17	NCOR1	p.Arg190*	stop_gained	La pérdida de esta proteína origina resistencia a la terapia con tamoxifeno en el cáncer de mama ¹³² . <i>Gen supresor</i>
28	Chr17	DHX8	p.Cys123*	stop_gained	En el cáncer de mama desarrolla tumores benignos ¹³⁴ .
29	Chr17	MPP2	-----	splice_acceptor_variant	Implicada en la mitosis, tumorigénesis y reparación del ADN. Produce resistencia al tratamiento con Paclitaxel y Epirrubicina en el cáncer de mama ¹³⁶ . <i>Oncogén.</i>

Tabla 6 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
30	Chr17	ATXN7L3	p.Met1?	start_lost	Disminuye la monoubiquitinación de histona H2B para regular genéticamente las células en el cáncer de mama ¹³⁵ .
31	Chr17	ABCC3	-----	splice_acceptor_variant	Permite la proliferación, migración y metástasis pulmonar de células cancerígenas de mama ¹³⁹ .
32	Chr17	STXBP4	-----	splice_acceptor_variant	Proteína ligada al cáncer de mama BRCA1 o BRCA2 ¹⁴⁰ .
33	Chr17	ALOX12B	p.Trp177*	stop_gained&splice_region_variant	Aumenta la actividad inmunosupresora en el cáncer de mama ¹⁶⁰ .
34	Chr19	EPOR	-----	splice_donor_variant	Asociado con la progresión del cáncer de mama, debido a la activación de la vía de señalización JAK2/STAT5, PI3K/AKT y Ras /ERK ¹⁴⁴ .
35	Chr19	CRTC1	-----	splice_acceptor_variant	Se encuentra unido al coactivador transcripcional Mastermind Like 2 en el cáncer de mama ¹⁴⁷ .
36	Chr19	KMT2B	p.Arg1021fs	frameshift_variant&splice_region_variant	Regula la expresión de genes diana del receptor de estrógenos nuclear α en el cáncer de mama ¹⁴⁸ .
37	Chr19	CYP2A6	p.Ser467*	stop_gained	Se observa en el cáncer de mama sobre todo en el tipo ER ⁺ ¹⁴⁹ .
38	ChrX	ARHGEF6	p.Leu285*	stop_gained	Se encuentra sobre expresado en el cáncer de mama ¹⁵³ .

❖ **Variantes genéticas de alto impacto que son patogénicas para el cáncer de mama y CMTN en la paciente.**

Dentro de las variantes genéticas de alto impacto se reportan dos genes patogénicos: el gen SMPD1 para el CMTN, ubicado en el cromosoma 11 con variación Lys189fs – frameshift, asociada a una mayor progresión de células cancerígenas mediante el aumento de ceramida¹⁵⁹ ; y el gen patogénico ALOX12B para el cáncer de mama, ubicado en el cromosoma 17 con variación p. Trp177* - stop_gained & splice_region, relacionada al aumento de la actividad inmunosupresora que se observa durante el desarrollo de la enfermedad¹⁶⁰.

❖ **Variantes genéticas de alto impacto y de significado incierto (VUS) relacionados al cáncer de mama y CMTN en la paciente.**

Se encontró a la variante genética ROBO2 como una variante de significado incierto dentro de los genes de alto impacto relacionados con el CMTN en la paciente, este gen se encuentra en el cromosoma 3 con variación p. Gly33* - stop_gained, asociada a la inhibición de la migración de células tumorales en el CMTN mediante la fosforilación de la proteína que controla la división celular⁶⁹.

Tabla 7: Variante genética de alto impacto, novels (variantes nuevas) relacionadas con el CMTN y el cáncer de mama.

Se encontraron 37 variantes genéticas con nuevas variantes de los cuales 20 variantes genéticas (*TP73*, *PIK3R3*, *TTN*, *EGF*, *ACSL1*, *ESR1*, *DACT2*, *LIMK1*, *PRSS3*, *PCSK5*, *TET1*, *MARCH5*, *LGR5*, *ORAI1*, *HERC1*, *PDPK1*, *PARN*, *EEF2K*, *CDC27*, *HDAC8*) tienen relación con el CMTN y 17 variantes genéticas (*DNM3*, *KIF3C*, *MLH1*, *HLA-DRB1*, *CTBP2*, *MUC6*, *MUC5B*, *PANX1*, *FLI1*, *VWF*, *STAT2*, *USP15*, *DHX8*, *MPP2*, *ATXN7L3*, *EPOR*, *CRTC1*) se identificaron en el cáncer de mama. Se presentan en la siguiente tabla según su ubicación en el cromosoma:

N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
1	Chr1	TP73	p.Tyr240*	stop_gained	Produce mimetismo vasculogénico en el CMTN ³⁶ . <i>Oncogén</i>
2	chr1	PIK3R3	p.Lys365*	stop_gained	Regula la actina del citoesqueleto y genera migración celular en el CMTN ⁴⁰ .
3	chr1	DNM3	p.Glu308*	stop_gained	Relacionada a la migración de células cancerígenas de mama ⁵⁷ .
4	chr2	KIF3C	----- --	splice_acceptor_variant	Se observa metástasis y proliferación del cáncer de mama al inducir la fase G2/M de la mitosis ⁶⁰ . <i>Oncogén</i>
5	chr2	TTN	p.Tyr26066*	stop_gained	Se presenta con recurrencia en el CMTN ⁶³ .
6	chr3	MLH1	p.Tyr283*	stop_gained	En el cáncer de mama se encuentra ligada a la mutación del BRCA1/2 ⁶⁴ .
7	chr4	EGF	----- --	splice_donor_variant	Interviene en el crecimiento tumoral en el CMTN a través de la vía de señalización PI3K/AKT ^{83, 84} .
8	chr4	ACSL1	----- --	splice_donor_variant	Promueve la producción de lípidos citoplasmáticos e inhibe la fosforilación oxidativa disminuyendo la metástasis y proliferación celular en el CMTN ⁹¹ .
9	chr6	HLA-DRB1	p.Gly9fs	frameshift_variant	Se encuentra presente en el cáncer de mama ⁹⁴ .

Tabla 7 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
10	chr6	ESR1	p.Tyr54*	stop_gained	Activa las vías de señalización PI3K /AKT/ mTORC1 o HDAC (histona deacetilasa) en el CMTN ^{161, 162} . <i>La mutación del gen inhibe su actividad.</i>
11	chr6	DACT2	p.Glu614*	stop_gained	Proteína supresora de células cancerígenas al revertir la EMT (transición de epitelio a tejido mesenquimal) en el CMTN ¹⁵⁵ . <i>Gen supresor</i>
12	chr7	LIMK1	----- --	splice_acceptor_variant	Promueve la invasión y progresión de células cancerígenas en el CMTN mediante la fosforilación e inactividad de la cofilina ¹⁵⁷ .
13	chr9	PRSS3	p.Gln113*	stop_gained	Tiene implicancia en el desarrollo y progresión del CMTN, hallándose sobre expresada ²⁰ . <i>Oncogén.</i>
14	chr9	PCSK5	p.Ser604*	stop_gained	Aumenta la invasión y metástasis celular en el CMTN al disminuir el factor de diferenciación de crecimiento ¹⁰⁰ .
15	chr10	TET1	p.Cys965*	stop_gained	Desencadena hipometilación del ADN y proliferación celular en el CMTN valiéndose de la vía de señalización PI3K-AKT-mTOR ²⁷ . <i>Oncogén</i>
16	chr10	MARCH5	p.Glu162*	stop_gained	Proteína que se encuentra sobre expresada en el CMTN ¹⁰⁴ .
17	chr10	CTBP2	p.Arg582fs	frameshift_variant	Represor transcripcional dependiente de NADH observado en el cáncer de mama ^{105,106} . <i>Gen supresor</i>
			p.Arg573fs	frameshift_variant	
			p.Arg13*	stop_gained	
18	chr11	MUC6	p.Ser1696*	stop_gained	Posibilita la invasión linfática de células cancerígenas de mama ^{107,109} .

Tabla 7 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
19	chr11	MUC5B	p.Cys666*	stop_gained	Se expresa en el cáncer de mama invasivo e in situ ¹⁰⁷⁻¹¹⁰ .
20	chr11	PANX1	p.Glu323*	stop_gained	Aumenta los canales de ATP para promueve la supervivencia y metástasis pulmonar de células cancerígenas de mama ¹¹³ .
21	chr11	FLI1	p.Glu308*	stop_gained	Inhibe la migración e invasión celular al aumentar la codificación de la proteína inhibidora de quinasa dependiente de ciclina en el cáncer de mama ¹¹⁶ .
22	chr12	VWF	p.Tyr1146*	stop_gained	Disminuye la metástasis y angiogénesis de células cancerígenas de mama ¹¹⁷ .
23	chr12	STAT2	----- --	splice_donor_variant	Permite la proliferación, migración e invasión de células cancerígenas de mama incrementando la codificación de la proteína 1 de transmembrana inducida por interferón ¹²¹ .
24	chr12	USP15	p.Tyr376*	stop_gained	Promueve la invasión de células cancerígenas de mama ¹²³ .
25	chr12	LGR5	----- --	splice_donor_variant	Permite el desarrollo de metástasis en ganglios linfáticos en el CMTN debido a la activación de la vía de señalización Wnt/ β -catenina ¹²⁴ .
26	chr12	ORAI1	p.Pro45fs	frameshift_variant	Promueve la invasión celular y la angiogénesis del CMTN al inducir la vía de señalización Notch1 y el aumento de Ca^{+2} intracelular ¹²⁵ .
27	chr15	HERC1	----- --	splice_acceptor_variant	Inhibe a la proteína supresora de tumor TSC2 en el CMTN por medio de la vía de señalización mTOR ¹²⁷ .
28	chr16	PDPK1	p.Leu428*	stop_gained	Permite la proliferación celular del CMTN empleando la vía de señalización PI3K-AKT ^{32,129} .
29	chr16	PARN	p.Met1?	start_lost	Se presenta disminuido en el CMTN y presenta un mecanismo de acción desconocido ¹³⁰ . <i>Gen supresor.</i>

Tabla 7 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
30	chr16	EEF2K	p.Gln660*	stop_gained	Induce la proliferación, migración e invasión de células cancerígenas del CMTN regulando la vía de señalización PI3K/AKT, ciclina D1, Src/Fak y IGFR ¹³¹ .
31	chr17	DHX8	p.Cys123*	stop_gained	En el cáncer de mama desarrolla tumores benignos ¹³⁴ .
32	chr17	MPP2	----- --	splice_acceptor_variant	Implicada en la mitosis, tumorigénesis y reparación del ADN. Produce resistencia al tratamiento con Paclitaxel y Epirubicina en el cáncer de mama ¹³⁶ . <i>Oncogén</i>
33	chr17	ATXN7L 3	p.Met1?	start_lost	Disminuye la monoubiquitinación de histona H2B para regular genéticamente las células en el cáncer de mama ¹³⁵ .
34	chr17	CDC27	p.Gly512fs	frameshift_variant	Mayor respuesta a la radioterapia en el CMTN al modular el complejo promotor de anafase ¹³⁷ .
35	chr19	EPOR	----- --	splice_donor_variant	Asociado con la progresión del cáncer de mama, debido a la activación de la vía de señalización JAK2/STAT5, PI3K/AKT y Ras /ERK ¹⁴⁴ .
36	chr19	CRTC1	----- --	splice_acceptor_variant	Se encuentra unido al coactivador transcripcional Mastermind Like 2 en el cáncer de mama ¹⁴⁷ .
37	chrX	HDAC8	p.Tyr111*	stop_gained	Relacionada a la migración, proliferación, diferenciación e invasión del CMTN mediante la regulación de la vía Hippo-YAP ¹⁵¹ .

6.4. Análisis de variantes genéticas con alto impacto y variación splice (ajustes) en la paciente.

La variación splice se produce debido a un reconocimiento incorrecto del sitio de corte en el exón e intrón obteniendo una transcripción aberrante del gen mutado¹³⁶.

Tabla 8: Variantes genéticas de alto impacto y variación splice relacionados con el CMTN en la paciente.

Se identificaron 19 variantes genéticas (NOTCH2, TTN, EGF, ACSL1, PSPH, LIMK1, FOXP2, KMT2C, PRSS3, CREB3L1, TMPRSS4, KMT2D, LGR5, HERC1, PPP1R9B, PRDX2, TMPRSS3, GGT1, NXF2) con variación splice en la paciente y se desarrollan en la siguiente tabla según su ubicación en el cromosoma:

N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
1	Chr1	NOTCH2	-----	splice_acceptor_variant	<p>Su expresión se encuentra disminuida en el CMTN debido a inhibir el crecimiento tumoral^{44, 188}.</p> <p><i>El gen presenta una transición de G a A cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 1/33, posición -2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 2 (ubicación 730 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>
2	Chr2	TTN	-----	splice_acceptor_variant	<p>Se presenta con recurrencia en el CMTN⁶³.</p> <p><i>El gen presenta una transición de A a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 117/191, posición -2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 118 (ubicación 56051 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>

Tabla 8 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
3	Chr4	EGF	-----	splice_donor_variant	<p>Interviene en el crecimiento tumoral en el CMTN a través de la vía de señalización PI3K/AKT^{83, 84}.</p> <p><i>El gen presenta una transversión de G a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 4/23, posición +1 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 4 (ubicación 737 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>
4	Chr4	ACSL1	-----	splice_donor_variant	<p>Promueve la producción de lípidos citoplasmáticos e inhibe la fosforilación oxidativa disminuyendo la metástasis y proliferación celular en el CMTN⁹¹.</p> <p><i>El gen presenta una transversión de G a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 19/20, posición +1 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 19 (ubicación 1884 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>
5	Chr7	PSPH	-----	splice_donor_variant	<p>Permite la progresión de células cancerígenas en el CMTN al producir serina relacionada al metabolismo de glicina¹⁵⁶.</p> <p><i>El gen presenta una delección de G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 5/7, posición +1 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 5 (ubicación 275 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>

Tabla 8 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
6	Chr7	LIMK1	-----	splice_acceptor_variant	<p>Promueve la invasión y progresión de células cancerígenas en el CMTN mediante la fosforilación e inactividad de la cofilina¹⁵⁷.</p> <p><i>El gen presenta una transición de A a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 2/15, posición -2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 3 (ubicación 243 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>
7	Chr7	FOXP2	p.Gln232del	splice_acceptor_variant & intron_variant	<p>Asociada a la invasión y crecimiento de células cancerígenas al modular las proteínas reguladas por glucosa en el CMTN⁹⁵.</p> <p><i>El gen presenta una delección de tres bases nitrogenadas (G, C, A) cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 5/16 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 6 (ubicación 693-695 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>
8	Chr7	KMT2C	-----	splice_acceptor_variant	<p>En el CMTN la proteína se encuentra disminuida en su expresión⁴⁷.</p> <p><i>Gen supresor.</i></p> <p><i>El gen presenta una transición de A a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 7/58, posición -2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 8 (ubicación 1013 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>

Tabla 8 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
9	Chr9	PRSS3	----- -	splice_donor_ variant	Tiene implicancia en el desarrollo y progresión del CMTN, hallándose sobre expresada ²⁰ . <i>Oncogén.</i> <i>El gen presenta una transición de G a A cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 3/5, posición +1 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 3 (ubicación 371 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i>
10	Chr11	CREB3L1	-----	splice_donor_ variant	En el CMTN disminuye la proliferación y metástasis celular ¹¹² . <i>Gen supresor</i> <i>El gen presenta una delección de G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 11/11, posición +5 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 11 (ubicación 1524 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i>
			p.Asp50 9fs	splice_acceptor_ variant	<i>El gen presenta una duplicación de G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 11/11 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 12 (ubicación 1525 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i>
11	Chr11	TMPRSS 4	-----	splice_acceptor_ variant	Promueve la metástasis en los ganglios linfáticos en el CMTN al inducir la transición de epitelio a tejido mesenquimal ¹¹⁵ . <i>El gen presenta una transición de A a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 1/12, posición -1 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 2 (ubicación 4 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i>

Tabla 8 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
12	Chr12	KMT2D	-----	splice_acceptor_variant	<p>Disminuye la invasión y migración celular en el CMTN¹²⁰.</p> <p><i>El gen presenta una transición de G a T cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 7/53, posición -1 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 8 (ubicación 955 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>
13	chr12	LGR5	----- ----	splice_donor_variant	<p>Permite el desarrollo de metástasis en ganglios linfáticos en el CMTN debido a la activación de la vía de señalización Wnt/β-catenina¹²⁴.</p> <p><i>El gen presenta una transición de T a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 17/17, posición +2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 17 (ubicación 1636 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>
14	Chr15	HERC1	-----	splice_acceptor_variant	<p>Inhibe a la proteína supresora de tumor TSC2 en el CMTN por medio de la vía de señalización mTOR¹²⁷.</p> <p><i>El gen presenta una transición de A a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 5/77, posición -2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 6 (ubicación 1534 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>

Tabla 8 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
15	Chr17	PPP1R9B			Se observa un mal pronóstico y mayor agresividad del CMTN, debiéndose posiblemente al aumento de la proteína de riboblastoma ¹³⁸ .
			p.Ala16 5fs	splice_acceptor_ variant&frameshift _variant	<i>El gen presenta una inserción de dos bases nitrogenadas (GC) cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en la posición +1 (ubicación 489-489 de la secuencia de referencia del ADN de codificación, en el extremo 3').</i>
			p.Gly15 9fs	splice_acceptor_ variant&frameshift _variant	<i>El gen presenta una inserción de dos bases nitrogenadas (GC) cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en la posición +1 (ubicación 471-471 de la secuencia de referencia del ADN de codificación, en el extremo 3').</i>
16	Chr19	PRDX2	-----	splice_acceptor_ variant&intron_ variant	<p>Se desarrolla metástasis pulmonar y protección de las células cancerígenas del estrés oxidativo en el CMTN^{145,146}.</p> <p><i>Oncogén.</i></p> <p><i>El gen presenta una delección de dos bases nitrogenadas (CA) cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 5/5 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 6 (ubicación 512-3 y 512-2 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>

Tabla 8 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
17	Chr21	TMPRSS3	-----	splice_acceptor_variant	<p>Posibilita la invasión celular al interactuar con el receptor del factor de crecimiento epidérmico y permite la resistencia al trastuzumab en el CMTN¹⁴³.</p> <p><i>El gen presenta una duplicación de dos bases nitrogenadas (TA) cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 7/12, relacionado al primer nucleótido codificante del exón 8 (ubicación 869-3 y 869-2 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>
18	Chr22	GGT1	-----	splice_donor_variant	<p>Proteína sobre expresada en el CMTN¹⁵⁰.</p> <p><i>El gen presenta una transición de G a A cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 6/15, posición +1 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 6 (ubicación 295 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>
19	ChrX	NXF2	-----	splice_donor_variant	<p>En el CMTN raras veces se presentan mutaciones¹⁵².</p> <p><i>El gen presenta una transición de G a A cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 26/32, posición +1 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 26 (ubicación 1301 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>

Tabla 9: Variantes genéticas de alto impacto y variación splice relacionados con el cáncer de mama en la paciente

Se identificaron 11 variantes genéticas (*KIF3C*, *TEKT4*, *HLA-DRB1*, *ADCK5*, *MUC19*, *STAT2*, *MPP2*, *ABCC3*, *STXBP4*, *EPOR*, *CRTC1*) splice en la paciente.

Se desarrollan a continuación en la tabla según su ubicación en el cromosoma:

N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
1	Chr2	KIF3C	-----	splice_acceptor_v ariant	Se observa metástasis y proliferación del cáncer de mama al inducir la fase G2/M de la mitosis ⁶⁰ . <i>Oncogén</i> El gen presenta una transversión de A a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 5/7, posición -2 relacionada al primer nucleótido codificante del exón 6 (ubicación 2007 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3´.
2	Chr2	TEKT4	-----	splice_acceptor_v ariant	Produce resistencia al Paclitaxel en el cáncer de mama ⁶¹ . El gen presenta una transición de G a A cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 5/5, posición -1 relacionada al primer nucleótido codificante del exón 6 (ubicación 1092 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3´.
3	Chr6	HLA- DRB1	-----	splice_donor_vari ant	Se encuentra presente en el cáncer de mama ⁹⁴ . El gen presenta una transversión de G a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 1/5, posición +1 relacionada al primer nucleótido codificante del exón 1 (ubicación 100 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5´.

Tabla 9 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
4	Chr8	ADCK5	-----	splice_donor_variant&coding_sequence_variant&intron_variant	<p>Se encuentra sobre expresada en el cáncer de mama⁹⁸.</p> <p><i>El gen presenta una delección de 15 bases nitrogenadas (GGTGCAAGGTGAGGG) cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 12/14 relacionada al primer nucleótido codificante del exón 12 (ubicación 1267+8 – 1267+22 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>
5	Chr12	MUC19	-----	splice_acceptor_variant	<p>Suscita la proliferación e invasión de células cancerígenas de mama¹¹⁰.</p> <p><i>El gen presenta una transición de G a A cerca al sitio de corte y empalme (splice) en el intrón 10/46, posición -1 relacionada al primer nucleótido codificante del exón 11 (ubicación 187 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>
6	Chr12	STAT2	-----	splice_donor_variant	<p>Permite la proliferación, migración e invasión de células cancerígenas de mama incrementando la codificación de la proteína 1 de transmembrana inducida por interferón¹²¹.</p> <p><i>El gen presenta una transversión de T a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 9/23, posición +2 relacionada al primer nucleótido codificante del exón 9 (ubicación 941 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>

Tabla 9 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
7	Chr17	MPP2	-----	splice_acceptor_v ariant	<p>Implicada en la mitosis, tumorigénesis y reparación del ADN. Produce resistencia al tratamiento con Paclitaxel y Epirrubicina en el cáncer de mama¹³⁶.</p> <p><i>Oncogén.</i></p> <p><i>El gen presenta una transversión de A a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 6/12, posición -2 relacionada al primer nucleótido codificante del exón 7 (ubicación 817 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>
8	Chr17	ABCC3	-----	splice_acceptor_v ariant	<p>Permite la proliferación, migración y metástasis pulmonar de células cancerígenas de mama¹³⁹.</p> <p><i>El gen presenta una transición de A a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 23/30, posición -2 relacionada al primer nucleótido codificante del exón 24 (ubicación 3379 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>
9	Chr17	STXBP 4	-----	splice_acceptor_v ariant	<p>Proteína ligada al cáncer de mama BRCA1 o BRCA2¹⁴⁰.</p> <p><i>El gen presenta una transición de G a A cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 5/11, posición -1 relacionada al primer nucleótido codificante del exón 6 (ubicación 57 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>

Tabla 9 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
10	Chr19	EPOR	-----	splice_donor_vari ant	<p>Asociado con la progresión del cáncer de mama, debido a la activación de la vía de señalización JAK2/STAT5, PI3K/AKT y Ras /ERK¹⁴⁴.</p> <p><i>El gen presenta una transversión de T a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 2/7, posición +2 relacionada al primer nucleótido codificante del exón 2 (ubicación 251 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>
11	Chr19	CRTC1	-----	splice_acceptor_v ariant	<p>Se encuentra unido al coactivador transcripcional Mastermind Like 2 en el cáncer de mama¹⁴⁷.</p> <p><i>El gen presenta una transversión de A a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 13/13, posición -2 relacionada al primer nucleótido codificante del exón 14 (ubicación 1742 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>

Tabla 10: Variantes genéticas de alto impacto, splices, novels (variantes nuevas) relacionados al cáncer de mama y CMTN en la paciente.

Se identificaron 10 variantes genéticas (*KIF3C*, *EGF*, *ACSL1*, *LIMK1*, *STAT2*, *LGR5*, *HERC1*, *MPP2*, *EPOR*, *CRTC1*) splice y novels en la paciente. Se desarrollan en la siguiente tabla según su ubicación en el cromosoma:

N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
1	Chr2	KIF3C	-----	splice_acceptor_variant	<p>Se observa metástasis y proliferación del cáncer de mama al inducir la fase G2/M de la mitosis⁶⁰.</p> <p><i>Oncogén</i> <i>El gen presenta una transversión de A a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 5/7, posición -2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 6 (ubicación 2007 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>
2	Chr4	EGF	-----	splice_donor_variant	<p>Interviene en el crecimiento tumoral en el CMTN a través de la vía de señalización PI3K/AKT^{83, 84}.</p> <p><i>El gen presenta una transversión de G a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 4/23, posición +1 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 4 (ubicación 737 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>
3	chr4	ACSL1	----- ---	splice_donor_variant	<p>Promueve la producción de lípidos citoplasmáticos e inhibe la fosforilación oxidativa disminuyendo la metástasis y proliferación celular en el CMTN⁹¹.</p> <p><i>El gen presenta una transversión de G a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 19/20, posición +1 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 19 (ubicación 1884 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>

Tabla 10 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
4	Chr7	LIMK1	-----	splice_acceptor_variant	<p>Promueve la invasión y progresión de células cancerígenas en el CMTN mediante la fosforilación e inactividad de la cofilina¹⁵⁷.</p> <p><i>El gen presenta una transición de A a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 2/15, posición -2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 3 (ubicación 243 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>
5	Chr12	STAT2	-----	splice_donor_variant	<p>Permite la proliferación, migración e invasión de células cancerígenas de mama incrementando la codificación de la proteína 1 de transmembrana inducida por interferón¹²¹.</p> <p><i>El gen presenta una transversión de T a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 9/23, posición +2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 9 (ubicación 941 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>
6	chr12	LGR5	----- ---	splice_donor_variant	<p>Permite el desarrollo de metástasis en ganglios linfáticos en el CMTN debido a la activación de la vía de señalización Wnt/β-catenina¹²⁴.</p> <p><i>El gen presenta una transición de T a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 17/17, posición +2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 17 (ubicación 1636 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>
7	Chr15	HERC1	-----	splice_acceptor_variant	<p>Inhibe a la proteína supresora de tumor TSC2 en el CMTN por medio de la vía de señalización mTOR¹²⁷.</p> <p><i>El gen presenta una transición de A a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 5/77, posición -2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 6 (ubicación 1534 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>

Tabla 10 (continuación).					
N°	POSICIÓN	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
8	Chr17	MPP2	-----	splice_acceptor_variant	<p>Implicada en la mitosis, tumorigénesis y reparación del ADN. Produce resistencia al tratamiento con Paclitaxel y Epirrubicina en el cáncer de mama¹³⁶.</p> <p>Oncogén <i>El gen presenta una transversión de A a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 6/12, posición -2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 7 (ubicación 817 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>
9	chr19	EPOR	----- ---	splice_donor_variant	<p>Asociado con la progresión del cáncer de mama, debido a la activación de la vía de señalización JAK2/STAT5, PI3K/AKT y Ras /ERK¹⁴⁴.</p> <p><i>El gen presenta una transversión de T a G cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 2/7, posición +2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 2 (ubicación 251 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 5'.</i></p>
10	Chr19	CRTC 1	-----	splice_acceptor_variant	<p>Se encuentra unido al coactivador transcripcional Mastermind Like 2 en el cáncer de mama¹⁴⁷.</p> <p><i>El gen presenta una transversión de A a C cerca al sitio de corte y empalme (splicing) en el intrón 13/13, posición -2 relacionado al primer nucleótido codificante del exón 14 (ubicación 1742 en la secuencia de referencia de ADN de codificación) en el extremo 3'.</i></p>

6.5. Análisis de quimioterapéuticos y las variantes genéticas reportadas en la paciente.

Tabla 11: Relación de quimioterapéuticos y las variantes genéticas reportados en la paciente.

Se relacionaron los 6 quimioterapéuticos (Ciclofosfamida, Fluorouracilo, Doxorrubicina, Paclitaxel, Docetaxel, Epirubicina) que se utilizan en el CMTN y las variantes genéticas (*ERCC1*, *CYP2B6*, *XRCC1*, *CBR3*) que se encontraron en la paciente. Se detallan en la siguiente tabla:

N°	TERAPIA	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
1	Ciclofosfamida ¹⁶⁵ .	ERCC1	p.Gln506 Lys	downstream_gene_ variant	Modificador de respuesta a droga <i>Gen con variante genética en la posición 506 ocasionando una sustitución de lisina por glicina en el extremo 5' del ADN codificante.</i>
	Fluorouracilo ¹⁶⁷ .				
	Doxorrubicina ¹⁷⁰ . (Adriamicina)				
	Paclitaxel ¹⁷² .				
	Docetaxel ¹⁷³ .				
2	Ciclofosfamida ¹⁶⁵ .	CYP2B6	----- -	intron_variant	Modificador de respuesta a droga. <i>Gen que presenta una variante genética en el intrón.</i>
	Adriamicina ¹⁷⁰ . (Doxorrubicina)				
3	Ciclofosfamida ¹⁶⁵ .	XRCC1	p.Gln399 Arg	missense_variant	Moderador de respuesta a droga <i>El gen desarrolla una variante genética sin sentido al sustituir la arginina por glicina en la posición 399 del ADN codificante.</i>
	Fluorouracilo ¹⁶⁷ .				
	Adriamicina ¹⁷⁰ . (Doxorrubicina)				
4	Ciclofosfamida ¹⁶⁵ .	CBR3	p.Val244 Met	missense_variant	Moderador de respuesta a droga. <i>Se observa en el gen una variante genética sin sentido al sustituir la metionina por valina en la posición 244 del ADN codificante.</i>
	Fluorouracilo ¹⁶⁷ .				
	Adriamicina ¹⁷⁰ . (Doxorrubicina)				
	Epirubicina ¹⁷¹ .				

Tabla 12: Relación de quimioterapéuticos utilizados por la paciente y las variantes genéticas observadas.

Se relacionaron los 3 quimioterapéuticos (Ciclofosfamida, Doxorubicina y Paclitaxel) utilizados por la paciente y las variantes genéticas encontradas (ERCC1, CYP2B6, XRCC1, CBR3), se desarrollaron en un mapa metabólico (**ver anexo 4: Mapa metabólico de quimioterapéuticos y variantes genéticas**) y se describen en la siguiente tabla:

N°	TERAPIA	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
1	Ciclofosfamida ¹⁶⁵ .	CBR3	p.Val244 Met	missense_variant	Enzima Carbonil reductasa 3 asociada al metabolismo y toxicidad de la Ciclofosfamida, siendo un moderador de respuesta a droga.
		ERCC1	p.Gln506 Lys	downstream_gene_variant	Enzima endonucleasa que repara el ADN mediante escisión, siendo un modificador de respuesta a droga, es la diana farmacológica de la Adriamicina en el extremo 3' del ADN.
		CYP2B6	----- -	intron_variant	Enzima perteneciente a la familia del citocromo P450 que produce la activación hepática de Ciclofosfamida, siendo un modificador de respuesta a droga.
		XRCC1	p.Gln399 Arg	missense_variant	Codifica la proteína reparadora del ADN por daño de los rayos X, siendo un moderador de respuesta a droga.

Tabla 12 (continuación).					
Nº	TERAPIA	GEN	HGVS.P	CONSECUENCIA	COMENTARIO
2	Doxorrubicina ¹⁷⁰ . (Adriamicina)	ERCC1	p.Gln506 Lys	downstream_gene_ variant	Enzima endonucleasa que repara el ADN mediante escisión, siendo un modificador de respuesta a droga, es la diana farmacológica de la Adriamicina en el extremo 3' del ADN.
		CYP2B6	----- -	intron_variant	Enzima perteneciente a la familia del citocromo P450 relacionada al metabolismo de medicamentos, siendo un modificador de respuesta a droga.
		XRCC1	p.Gln399 Arg	missense_variant	Codifica la proteína reparadora del ADN por daño de los rayos X, siendo un moderador de respuesta a droga.
		CBR3	p.Val244 Met	missense_variant	Enzima Carbonil reductasa 3, metaboliza la Doxorrubicina en doxorrubicinol, siendo un moderador de respuesta a droga.
3	Paclitaxel ¹⁷² .	ERCC1	p.Gln506 Lys	downstream_gene_ variant	Enzima endonucleasa que repara el ADN mediante escisión, siendo un modificador de respuesta a droga, permite el desarrollo de toxicidad del Paclitaxel.

7. DISCUSIÓN

El cáncer de mama es una de las enfermedades de mayor prevalencia entre las mujeres en todo el mundo, y en el Perú es uno de los mas frecuentes. Dentro de los tipos de cáncer de mama, el CMTN no presenta: receptor de estrógeno (ER), receptor de progesterona (PR) ni sobre-expresión del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (Her-2); teniendo pronóstico desfavorable y sin terapia eficaz.

La identificación de genes relacionados al CMTN mediante la secuenciación de exoma puede permitir un diagnóstico con mayor precisión y una terapia individualizada con gran eficacia y menor toxicidad. El análisis bioinformático nos permite analizar e interpretar datos producidos por la secuenciación de exoma completo, permitiéndonos tener una terapia y un diagnóstico personalizado.

En el presente estudio se realizó la optimización del análisis bioinformático mediante el uso de diversas herramientas aplicadas en el control de calidad, filtrado de secuencias, alineamiento, llamado de variantes y anotación.

7.1. Análisis Bioinformático:

En la evaluación de calidad de lecturas, se utilizó el FastQC porque es la herramienta estándar para analizarlas, además que presenta un rápido procesamiento y mayor capacidad de ejecución, en comparación con los paquetes SolexaQA, que no elimina lecturas no deseadas, y FASTX-Toolkit, que necesita de flujos personalizados para el control de calidad y recorte de datos¹⁸⁹.

Para el filtrado de lecturas por calidad, se empleó la herramienta Trim galore y Prinseq como complementos; según el Babraham Institute se observa a la herramienta Trim galore produciendo cortes de calidad homogéneos en todas las lecturas, basado en los parámetros de calidad fijados de forma automatizada y eliminando las secuencias de baja calidad¹⁹⁰. Lindgreen et al., compararon

diferentes herramientas para cortar adaptadores de secuencia, observándose al Trim galore como una herramienta que identifica adaptadores solo en el extremo 3' de las lecturas, además recorta nucleótidos de calidad y descarta lecturas cuyo complemento fue eliminado¹⁹¹.

Hsin-Fu Liu et al., utilizaron la herramienta Prinseq como un complemento del Trim galore para garantizar una alta calidad de secuencia¹⁹². Anamika K et al., observaron que la herramienta Prinseq generaba datos de calidad en el recorte, logrando observarse: número, longitud, duplicaciones, contaminaciones y ambigüedad de las secuencias¹⁹³.

Para el alineamiento con el genoma de referencia se manejó las herramientas Burrows-Wheeler aligner (BWA), siendo la herramienta de mayor uso para mapear secuencia de lecturas con un genoma de referencia. Presenta tres algoritmos de alineamiento: BWA-backtrack, para lecturas cortas, BWA-SW y BWA-MEM, en lecturas largas, es por ello más eficiente en comparación con la herramienta Bowtie2, que solo permite la alineación de lecturas cortas^{194, 195}; según Xuning W et al., BWA detectó *indels* aunque no de la misma forma que la herramienta ABRA¹⁹⁶.

En el ordenamiento de las lecturas mapeadas, la herramienta elegida fue el SAMtools, paquete de biblioteca / software, que procesa y analiza alineaciones en el formato SAM, almacena grandes alineamientos de nucleótidos secuenciados, y BAM¹⁹⁷; Crysnanto D et al., observaron que la herramienta SAMtools requería menos recursos informáticos además de revelar la mayor cantidad de *indels*, en comparación con las herramientas Graph typer y GATK¹⁹⁸. Julsgaard M et al., describieron que la herramienta SAMtools no requiere de muchos recursos en el procesador en contraste con el GATK ¹⁹⁹.

El marcado de duplicaciones se realizó con la herramienta Picard-MarkDuplicates. MarkDuplicates (herramienta tipo GATK 4) trabaja mediante análisis Picard permitiendo un marcado automático de los duplicados después de una fase general

de marcado, basada en posiciones de mapeo adaptadas en la fase de lectura, y de esta manera generar métricas para distinguir entre los productos PCR y los duplicados²⁰⁰.

En el ajuste de alineamientos se empleó la herramienta SAMtools-mpileup debido a su uso como herramienta universal y pertenecer al tipo SAMtools. Permite realizar indexaciones, llamado de variantes, visor de alineación y se implementa para alineaciones de postprocesamiento en el formato SAM¹⁹⁷. Sun Ch et al., utilizaron SAMtools-mpileup para el ajuste de la alineación de genotipos resultantes a partir de datos de secuenciación del genoma completo para diagnóstico²⁰¹. Xing Wu et al., observaron que SAMtools-mpileup lograba una recuperación de información similar a la herramienta GATK y una mayor precisión para identificar *indels*, pero menor recuperación de información en comparación con GATK- HC, sin embargo, en poblaciones de alta diversidad genética, SAMtools-mpileup presentaba una precisión alta²⁰².

Se eligió el Integrative genomic viewer (IGV) para la visualización del alineamiento, visor de alto rendimiento en el que se pueden observar variantes alternativas (polimórficas) de la alineación a través de cuatro métodos: diagrama de dispersión bidimensional con redes, mapas de calor y coordenadas genómicas, por ello son de gran utilidad para graficar datos genómicos de cáncer, permitiendo el manejo de datos grandes heterogéneos, proporciona coordenadas oncogenómicas mostrando las alteraciones y es el soporte de secuenciaciones de próxima generación (NGS) para obtener datos clínicos^{203, 204}.

El llamado de las variantes se llevó a cabo con la herramienta VarScan, esta herramienta identifica y clasifica las variantes de un solo nucleótido (SNV) y las variantes de inserción/delección (*indels*). VarScan puede identificar mutaciones somáticas, variantes de línea germinal y pérdida de heterocigosidad al comparar datos normales con tumorales en cada posición de cobertura; reevalúa las mutaciones aparentes de novo e intenta corregir los errores de la herencia mendeliana²⁰⁵.

Di Nanni et al., luego de comparar múltiples flujos (*pipelines*) encontraron que las herramientas VarScan y Mutect2 detectaron más sitios de mutación en los genes GATA3 y CDH1 relacionados al cáncer de mama en comparación con las herramientas Muse y SomaticSniper²⁰⁶. Koboldt *et al.*, haciendo uso del VarScan detectaron mutaciones somáticas y alteraciones en el número de copias con resultados eficientes en la secuenciación del exoma de pacientes con cáncer de ovario²⁰⁷. Sandmanns et al., evaluaron herramientas para el llamado de variantes en datos de secuenciación, observando que las herramientas VarScan y VarDict detectan un menor número de variantes falsos positivos, sin embargo, la herramienta VarDict identifica menos cantidad de variantes totales²⁰⁸.

Para la anotación de variantes se utilizaron las herramientas Variant effect predictor (VEP), SnpEff y SnpSift. La herramienta VEP es la más utilizada en proyectos genómicos de gran escala como 1000 genomas y el consorcio de agregación de exomas (Exac), esta realiza anotaciones detalladas analizando la mayoría de variaciones en regiones codificantes y no codificantes del genoma²⁰⁹. SnpEff anota variantes en función a su ubicación genómica, y predice los efectos de la codificación, esta difiere del ANNOVAR y VAAST al ser un código abierto que admite archivos de formato de llamado de variantes (VCF), TXT y FASTA²¹⁰. Por su parte, SnpSift filtra miles de variantes en el formato VCF e identifica las variantes simples e inserciones/deleciones relevantes para un determinado fenotipo y determinando los posibles efectos mutacionales en la transcripción o traducción²¹¹.

En la predicción del efecto de las variantes genéticas en las proteínas, se utilizaron las herramientas Polyphen y SIFT. Flanagan et al., observaron una alta sensibilidad en el valor predictivo de estas dos herramientas al trabajar en conjunto, debido a que SIFT clasifica el efecto de la variante (sin efecto a deletéreo) en la proteína y el PolyPhen analiza el impacto estructural/funcional sobre la proteína e inferir polimorfismo fenotípico (desconocido, benigno a probablemente daño), priorizando cambios que probablemente causen una pérdida de la función de la proteína²¹².

El Polyphen analiza un gran volumen de datos utilizando consideraciones evolutivas comparativas / estructurales, anotando información funcional de los polimorfismos tipo SNP y estima la probabilidad de efecto nocivo de la mutación sin sentido²¹³.

7.2. Variantes de susceptibilidad a la enfermedad

Se reportaron 38 variantes genéticas relacionados al cáncer de mama en la paciente CMTN (ver tabla 4) *KIF3C*, *PEBP4*, *MPP2*, *ITIH5*, *CTBP2*, *NCOR1*, *DNM3*, *TEKT4*, *MLH1*, *DVL3*, *CYFIP2*, *HLA-DRB1*, *HLA-DQB1*, *SRRM3*, *MAL2*, *ADCK5*, *MUC6*, *MUC2*, *MUC5B*, *PANX1*, *FLI1*, *VWF*, *MUC19*, *STAT2*, *LRP1*, *USP15*, *SIX1*, *SYNM*, *DHX8*, *ATXN7L3*, *ABCC3*, *STXBP4*, *ALOX12B*, *EPOR*, *CRTC1*, *KMT2B*, *CYP2A6*, *ARHGEF6*. En contraste con los resultados, Chirivella et al., mencionaron que las mutaciones en los genes *BRCA1/2*, *TP53*, *PTEN*, *CDH1* y *STK11* confieren un alto riesgo para contraer cáncer de mama y las mutaciones en los genes *BRIP1*, *ATM*, *PALB2* y *CHEK2* presentan un menor riesgo para esta enfermedad¹⁶.

Silva et al., observaron que las variantes genéticas en *BRCA1*, *BRCA2*, *p53*, *PTEN*, *STK11* y *CDH1* están relacionadas a una alta susceptibilidad para contraer cáncer de mama, asimismo las variaciones en los genes *CHK2*, *ATM*, *RAD51C*, *BRIP1* y *PALB2* confieren una susceptibilidad moderada a la enfermedad²¹⁴.

Larsen et al., describieron que las variaciones en los genes *TP53*, *CDH1*, *PTEN*, *STK11*, *RAD51C* y *RAD51D* son de alto riesgo para el desarrollo del cáncer de mama y las variantes genéticas en *ATM*, *CHEK2*, *BRIP1* y *PALB2* tienen un moderado y bajo riesgo de producir la enfermedad ²¹⁵. Beitsh P et al., observaron que las variantes genéticas en *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PTEN*, *STK11*, *TP53* son comúnmente incluidas en los paneles de diagnóstico genético del cáncer de mama²¹⁶.

El gen ***ALOX12B*** se reportó como una variante genética de alto impacto y patogénico para el cáncer de mama en la paciente con CMTN. Este gen codifica la

enzima Araquidonato 12-lipooxigenasa (ALOX12B) encontrándose principalmente en la piel y células epiteliales, involucrada en la regulación del sistema inmune.

Se desconoce con exactitud la ruta bioquímica que desarrolla en el cáncer de mama, sin embargo, Mahr et al., reportaron que la enzima ALOX12B bloquea la fagocitosis de los monocitos inflamatorios hacia las células apoptóticas no permitiendo la presentación de antígenos a la célula T, reduciendo de esta manera la actividad citolítica inmune en el cáncer de mama¹⁶⁰. Ryuichi et al., evidenciaron que la enzima ALOX12 se encontraría involucrada en el cáncer de mama, sin embargo, el subtipo B (ALOX12B) tendría relación con la enfermedad cutánea de recién nacido²¹⁷. Medina-Aguilar R et al., reportaron que el gen *ALOX12B* se encuentra metilado en el ADN de células cancerígenas de mama triple negativo ²¹⁸.

El gen ***KIF3C*** se observa como una variante genética de alto impacto, splice y variante nueva para el cáncer de mama en la paciente con CMTN. Este gen permite la codificación de la proteína KIF3C, un miembro de la familia de las quinesinas relacionado al transporte intracelular, morfogénesis, funcionamiento y supervivencia celular; encontrándose en gran cantidad en el sistema nervios.

Chengqin Wang et al., reportaron que el gen *KIF3C* se encuentra sobreexpresado en tejidos en cáncer de mama, permitiendo la progresión y metástasis celular al activar la señalización de TGF – β , actúa sobre el receptor de serina / treonina quinasa, permitiendo a la enzima KIF3C fosforilar las proteínas Smads, promoviendo la invasión tumoral y la metástasis al inducir la transición epitelial-mesenquimatosa (EMT)⁶⁰. Zou J et al., observaron que el estrógeno reprime a la proteína KIF3C quien posiblemente induce a la ciclina B1 y al cdc2 para activar la fase G2/ M de la mitosis y promover la proliferación de células cancerígenas²¹⁹.

Se han encontrado 44 variantes genéticas de alto impacto relacionados al CMTN en la paciente (ver tabla 3) entre ellos *TP73*, *FOXO3*, *PRSS3*, *TET1* y *PRDX2*, *NOTCH2*, *TAP2*, *DACT2*, *KMT2C*, *CREB3L1*, *VDR*, *PARN*, *PIK3R3*, *TTN*, *ROBO2*, *PCDH7*, *EGF*, *ACSL1*, *HLA-A*, *ESR1*, *PSPH*, *LIMK1*, *FOXP2*, *PCSK5*, *SNCG*,

MARCH5, NCR3LG1, CASP12, CASP5, TMPRSS4, SMPD1, KMT2D, LGR5, ORAI1, HERC1, PDPK1, IL32, EEF2K, CDC27, PPP1R9B, TMPRSS3, GGT1, HDAC8, NXF2. Shimelis H et al., encontraron que las variantes genéticas en *BARD1, BRCA1, BRCA2, PALB2* y *RAD51D* se relacionaron con un alto riesgo de contraer CMTN y las variantes genéticas en *BRIP1, RAD51C* y *TP53* se asociaron con un moderado riesgo de desarrollar la enfermedad ²⁶. Couch F et al., reportaron que las variantes genéticas en *PALB2, RAD51D* y *BARD1* se relacionaron a un alto riesgo de presentar CMTN, además las mutaciones en los genes *BRIP1, RAD51C* y *NBN* correspondieron a un moderado riesgo de contraer la enfermedad ²²⁰.

El gen ***SMPD1*** se encuentra como una variante genética de alto impacto y patogénico para la paciente con CMTN. *SMPD1* codifica la enzima esfingomielina fosfodiesterasa 1 o esfingomielinasa ácida (*SMPD1*) participando en la hidrólisis de la esfingomielina produciendo ceramida.

Preeti Purwaha et al., reportaron que la enzima *SMPD1* promueve la progresión de las células cancerígenas, esto mediante, la producción de ceramida al hidrolizar esfingomielina; así mismo, se observa que a mayor esfingomielina o menor enzima *SMPD1* se tiene un mejor pronóstico del CMTN¹⁵⁹. Makoukji J et al., observaron que el gen *SMPD1* se encuentra sobreexpresado en el cáncer de mama permitiendo mayor codificación de la proteína *SMPD1* quien participa en la formación de ceramida, relacionada con: el crecimiento, diferenciación, senescencia y apoptosis de las células cancerosas; además se evidencia que la disminución de esta enzima puede mejorar la respuesta clínica a la radioterapia ²²¹.

Newcombr et al., asociaron a la enzima *SMPD1* con la migración de células del cáncer de mama inducida por el TNF- α (factor de necrosis tumoral), a través de una cascada que inicia con la producción de ceramida y su metabolización, posiblemente por la CERK (ceramida quinasa), produciendo ceramida 1 – fosfato que activa la citoquina, citosina, quimiocina CCL5 y promueve la migración de células en el cáncer de mama²²².

Se describen 3 genes (ROBO2, TP73 y EGF) con ruta bioquímica desconocida en el desarrollo del CMTN.

El gen **ROBO 2** presenta una variante genética reportada como alto impacto y también variante de significado incierto (VUS) para la paciente con CMTN.

Este gen codifica al receptor de orientación indirecta ROBO2. Bhattacharya et al., relacionaron el polimorfismo del gen **ROBO2** con la disminución de la codificación del receptor ROBO 2 en los pacientes con cáncer de mama triple negativo; permitiendo al ligando SLIT2 desfosforilar e inactivar en menor cantidad al CDC42-GTP, forma activa del homólogo de la proteína 42 del control de división celular, promoviéndose la progresión de células cancerígenas⁶⁹. Feng Xu et al., describieron al gen ROBO2 como un gen supresor en el cáncer de mama que se encuentra raras veces, sin embargo, no se observa alteración en la proliferación celular por disminución del receptor ROBO 2²²³.

La variante genética de **TP73** se reporta como un polimorfismo de alto impacto y novel (variantes nuevas) para la paciente con CMTN. El gen **TP73** codifica la proteína tumoral p73 quien actúa como un supresor de células cancerígenas e induce la apoptosis.

Yamamoto et al., asociaron la expresión del gen **TP73** con parámetros patológicos en el cáncer de mama debido a que la proteína TP73 esta disminuida en los casos de metástasis, mostrando un índice mitótico alto y evasión de la apoptosis²²⁴. Rosa Murria et al., reportaron al gen supresor **TP73** metilado en pacientes con CMTN²²⁵. Wei Tao et al., observaron a la proteína TP73 de forma aberrante en el CMTN, actuando como un protooncogén, que activa a la proteína de torsión del ADN (TWIST1) para inactivar a la adhesina celular, E-cadherina, promoviendo el mimetismo vasculogénico de la célula tumoral facilitando su nutrición y metástasis³⁶.

El gen **EGF** se reporta como una variante genética de alto impacto, novel (variantes nuevas) y variante splice para la paciente con CMTN. Este gen codifica el factor de crecimiento epidérmico (EGF).

Qing He et al., describieron a la proteína EGF como un factor, que al unirse con su receptor EGFR, se autofosforila y activa la cascada EGFR/ Grb2/ Gab1/ Shp2 iniciando la ruta de señalización PI3K/AKT (fosfatidilinositol 3-quinasa /serina-treonina quinasa 1), que actúa sobre factores de transcripción en el ADN permitiendo la transición de epitelio a tejido mesenquimal (EMT), conllevando al crecimiento, invasión y metástasis de células cancerígenas, además de evitar la apoptosis en el CMTN⁸³. Socca et al., describieron al EGF sobreexpresado en el cáncer de mama con una mayor incidencia de metástasis; interfiriendo en la función apoptótica y promoviendo la migración celular, debido al desencadenamiento de la vía de señalización PI3K / AKT⁸⁴.

7.3. Quimioterapéuticos y variantes genéticas reportados en la paciente

Los quimioterapéuticos prescritos a la paciente fueron Doxorrubicina (Adriamicina), Ciclofosfamida y Paclitaxel. Ariza Y et al., nos indican que la Doxorrubicina se utiliza juntamente con Ciclofosfamida, pudiendo agregarse el 5-Fluorouracilo o Docetaxel/ Paclitaxel en personas con cáncer de mama²²⁶, de igual forma según el protocolo del INEN para los pacientes con CMTN, se emplea Doxorrubicina y Ciclofosfamida considerándose adicionar Paclitaxel en la farmacoterapia⁸.

Se evaluaron 4 variantes polimórficas ERCC1, CYP2B6, XRCC1, CBR3 encontrados en la paciente, relacionados a su farmacoterapia.

Se encontró la variante genética **ERCC1 (rs3212986)** relacionada a la actividad de Doxorrubicina, Ciclofosfamida y Paclitaxel. El gen **ERCC1** codifica una enzima endonucleasa importante en la reparación por escisión del daño producido en el ADN por la Ciclofosfamida, Doxorrubicina y Paclitaxel, además la enzima ERCC1

está asociada la toxicidad de estos quimioterapéuticos, siendo probablemente un blanco terapéutico de la Doxorubicina y Ciclofosfamida^{165, 170, 172}.

Tecza K et al., evaluaron la toxicidad de Doxorubicina, Ciclofosfamida y 5-Fluorouracilo en pacientes con cáncer de mama y polimorfismo de algunos genes entre ellos el polimorfismo *ERCC1* (rs3212986) que produce una menor transcripción de la proteína ERCC1, además es relacionado con neutropenia recurrente producida con terapia de Doxorubicina y Ciclofosfamida²²⁷. Pongsavee et al., identificaron que el polimorfismo rs3212986 del gen ERCC1 en mujeres tailandesas se asocia con un mayor riesgo de contraer el cáncer de mama²²⁸. Chia-Wen et al., no observaron al polimorfismo *ERCC1*(rs3212986) como un indicador de inicio para el cáncer de mama, sin embargo, puede causar variación en la actividad de la Doxorubicina y Ciclofosfamida en pacientes con CMTN²²⁹.

Se evaluó la variante genética **CYP2B6** (rs2279345) con referente a la acción de la Doxorubicina y Ciclofosfamida. El gen *CYP2B6* codifica una enzima de la familia 2 del citocromo P450, subfamilia B relacionada a la activación y la formación de los metabolitos tóxicos de la Ciclofosfamida; de igual forma, podría estar involucrada en el metabolismo de la Doxorubicina.

Haroun et al., mostraron que el polimorfismo del gen *CYP2B6* (*CYP2B6**4 (rs2279343), *CYP2B6**5 (rs3211371) y *CYP2B6**9 (rs3745274) no tendría relación con la toxicidad de Ciclofosfamida en pacientes con cáncer de mama de un país árabe del medio oriente, sin embargo, se asocian a un tiempo más corto de recurrencia tumoral en pacientes con enfermedad recidivante²³⁰. Qingkun Song et al., reportaron que los pacientes con cáncer de mama metastásicos tratados con Docetaxel y Tiotepa interactúan con los polimorfismos de *CYP2B6*(*CYP2B6**4 (rs2279343), *CYP2B6*(rs819219)) logrando un mejor pronóstico de la paciente²³¹.

Se evaluó la variante genética de **XRCC1** (rs25487) encontrada en la paciente con CMTN con los quimioterapéuticos Doxorubicina y Ciclofosfamida. Este gen codifica la proteína XRCC1 relacionada con la reparación de la cadena simple y

doble del ADN por daño de los rayos X, exposición a especies reactivas de oxígeno (ROS), agentes alquilantes o radiación ionizante^{165,170, 227}.

Tecza K et al., evaluaron la toxicidad de Doxorrubicina, Ciclofosfamida y 5-Fluorouracilo en pacientes con cáncer de mama y polimorfismo de algunos genes, entre ellos el *XRCC1(rs25487)*, esta variación produce que la proteína transcrita presente una reparación menos eficiente en el ADN, además es relacionado con náuseas tempranas y severas producidas con la terapia de Doxorrubicina y Ciclofosfamida²²⁷. Zhang. Z et al., concluyeron que la expresión de *XRCC1* podría interferir con la reparación por escisión del ADN permitiendo una mayor sensibilidad de células de CMTN al cisplatino²³².

El gen ***CBR3*** presenta una variación polimórfica 730G>A (rs1056892) en la paciente con CMTN asociada con la quimioterapia de Doxorubicina y Ciclofosfamida. Este gen codifica la enzima carbonil reductasa 3 que metaboliza la Doxorrubicina en Doxorrubicinol, así mismo, está involucrada en el metabolismo de ciclofosfamida^{165, 170}.

Fan L. et al., encontraron que la actividad de la enzima *CBR3* es mayor con el polimorfismo rs1056892, existiendo un aumento en el metabolismo de Doxorrubicina sin presentar toxicidad hematológica ni reducción tumoral.²³³ Saccoy K et al., asociaron a la variante del gen *CBR3* con una mayor reducción del tumor y empeoramiento de la neutropenia²³⁴. Sing-Huang et al., mostraron que el polimorfismo del gen *CBR3* desarrolla manifestaciones clínicas cuando se emplean terapias con antraciclinos; sin embargo, la variante 730G>A presenta una mayor conversión de Doxorrubicina a doxorrubicinol sin observación de toxicidad hematológica en pacientes con cáncer de mama²³⁵.

8. CONCLUSIONES

- Se optimizó el análisis bioinformático del exoma de una paciente con cáncer de mama triple negativo considerando el uso de los softwares FastQC, Trim galore, Prinseq, Burrows-Wheeler aligner (BWA), SAMtools, Picard-MarkDuplicates, SAMtools-mpileup, Integrative genomic viewer (IGV), VarScan, Variant effect predictor (VEP), SnpEff, SnpSift, obteniéndose una adecuada identificación de variantes genéticas.
- Empleando el análisis bioinformático optimizado se reportaron adicionalmente 20 variantes nuevas y 5 genes con variante splice-novel relacionadas al CMTN y de posible relevancia clínica en la paciente, en comparación con el análisis bioinformático base.
- Se detectaron en la paciente, tanto en el análisis bioinformático optimizado como en el análisis bioinformático base, 04 variantes conocidas en los genes ERCC1, CYP2B6, XRCC1 y CBR3 de respuesta a las drogas Doxorubicina (Adriamicina), Ciclofosfamida y Paclitaxel que se indican generalmente en el tratamiento de la enfermedad y que fueron utilizados por la paciente.

9. RECOMENDACIONES

- Evaluar otras herramientas bioinformáticas que permitan analizar más cantidad de variantes genéticas a las reportadas o precisen mayor información sobre las variantes encontradas en el estudio.
- Complementar este estudio en la línea germinal, analizando ADN de tumores (línea somática) y adaptando el flujo del análisis bioinformático
- Realizar mayor investigación sobre las variantes de significado incierto (VUS) encontradas en la paciente, para poder conocer su impacto como oncogén o supresor sobre el CMTN.
- Realizar estudios mas detallados de las variantes nuevas (noveles) encontradas, para conocer el impacto en las proteínas, las rutas bioquímicas y el fenotipo clínico, considerando el alto componente de ancestría amerindia en población peruana.
- Ampliar los análisis de otras variantes como inserciones y deleciones de mayor tamaño así como las variaciones en el número de copias (CNV) en el CMTN.
- Realizar mas estudios sobre el uso de ciertas drogas que podrían tener una mayor respuesta por parte de la paciente y en general en la enfermedad considerando el perfil farmacogenético.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kwong A. Genetic testing for hereditary breast cancer in Asia—moving forward. *Chin Clin Oncol* 2016; 5(3):47.
2. Ávila J. Importancia del Plan operativo institucional dentro del proceso de modernización de la gestión pública. *Boletín Epidemiológico del Perú*. 2018; 27 (31): 698-699.
3. Lv, M., Xu, P., Wu, Y., Huang, L., Li, W., Lv, S., et al. LncRNAs as new biomarkers to differentiate triple negative breast cancer from non-triple negative breast cancer. *Oncotarget*. 2016;7(11):13047–13059.
4. Cao W, Zhang B, Lis, J., Liu, Y., Liu, Z., Sun, B. SLP-2 overexpression could serve as a prognostic factor in node positive and HER2 negative breast cancer. *Pathology* 2011; 43(7): 713–718
5. Zaharia M and Gómez H. Triple negative breast cancer: a difficult disease to diagnose and treatment. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 2013; 30: 649-656.
6. Sporikova Z, Koudelakova V, Trojanec R, Hajduch M. Genetic Markers in Triple-Negative Breast Cancer. *Clin. Breast Cancer*. 2018; 18:841-850.
7. Tao J J, Castel P, Radosevic-Robin N, Elkabets M, Auricchio N, Aceto, N. Antagonism of EGFR and HER3 enhances the response to inhibitors of the PI3K-Akt pathway in triple-negative breast cancer. *Science signaling*. 2014;7(318): ra29
8. Departamento de Oncología Médica. Guía de Práctica clínica de Cáncer de mama. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. 2013.
9. Narod S, Dent RA, Foulkes WD. CCR 20th Anniversary Commentary: Triple- Negative Breast Cancer in 2015—Still in the Ballpark. *Clin Cancer Res* 2007; 13(15): 4429-34.
10. Warr A, Robert C, Hume D, Archibald A, Deeb N, Watson M. Exome Sequencing: Current and Future Perspectives. *G3: Genes|Genomes|Genetics*. 2015; 5(8):1543-1550.
11. Turnbull C, Sud A & Houlston R S. Cancer genetics, precision prevention and a call to action. *Nature genetics* 2018, 50(9): 1212–1218.
12. Perez J, Jimenez R, Lie A, Gonzalez B. COMPORTAMIENTO BIOQUÍMICO DEL CÁNCER. *Ciencias Médicas La Habana* 2010, 16(1).
13. Yaffe M., Why geneticists stole cancer research even though cancer is primarily a signaling disease. *SCIENCE SIGNALING* 2019,12(565).
14. Li CW, Lim SO, Chung EM, Kim YS, Park AH, Yao J, et al. Eradication of triple-negative breast cancer cells by targeting glycosylated PD-L1. *Cancer Cell*, 2018, 33(2):187-201.
15. Pomerantz MM, Freedman ML. The genetics of cancer risk. *Cancer J*. 2011;17(6):416–422.
16. Chirivella GI, Garcés HV. Cáncer de mama hereditario más allá de BRCA1/BRCA2. *Genética Médica y Genómica*. 2018; 2.

17. Rehman A., Kim Y., Kim H., Sim J., Ahn H., Chung M.S., Shin S.J., Jang K. FOXO3a expression is associated with lymph node metastasis and poor disease-free survival in triple-negative breast cancer. *J. Clin. Pathol.* 2018;71: 806–813.
18. Hessel H, Poignée-Heger M, Lohmann S, Hirscher B, Herold A, Assmann G, et.al. Subtyping of Triple Negative Breast Carcinoma on the Basis of RTK Expression. *J Cancer.* 2018;9(15):2589-2602.
19. Grottke A, Ewald F, Lange T, Norz D, Herzberger C, Bach J, et.al. Downregulation of AKT3 increases migration and metastasis in triple negative breast cancer cells by upregulating s100a4. *PLoS One.* 2016;11: e0146370.
20. Qian L, Gao X, Huang H, Lu S, Cai Y, Hua Y, et al. PRSS3 is a prognostic marker in invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncotarget.* 2017;8: 21444–21453.
21. Cossu-Rocca P, Orru S, Muroi MR, Sanges F, Sotgiu G, Ena S, et.al. Analysis of PIK3CA mutations and activation pathways in triple negative breast cancer. *PLoS ONE.* 2015.10(11): e0141763.
22. Pedersen MH, Hood BL, Beck HC, Conrads TP, Ditzel HJ, Leth-Larsen R. Downregulation of antigen presentation-associated pathway proteins is linked to poor outcome in triple-negative breast cancer patient tumors. *Oncoimmunology.* 2017;6(5): e1305531.
23. Sulaiman A, McGarry S, Lam KM, El-Sahli, S., Chambers, J., Kaczmarek, S., et al. Co-inhibition of mTORC1, HDAC and ESR1 α retards the growth of triple-negative breast cancer and suppresses cancer stem cells. *Cell Death Dis.* 2018;9(8):815.
24. Player A, Oguamanam T, Okanmelu J, Burrell K, Hollomon M. Preliminary characterization of IL32 in basal-like/triple negative compared to other types of breast cell lines and tissues. *BMC Res Notes.* 2014;7: 501.
25. Pern F, Bogdanova N, Schürmann P, Lin M, Ay A, Länger F, et.al. Mutation analysis of BRCA1, BRCA2, PALB2 and BRD7 in a hospital-based series of German patients with triple-negative breast cancer. *PLoS ONE.* 2012. 7: e47993
26. Shimelis H., LaDuca H., Hu C., Hart S N., Na J., Thomas, A., et.al. Triple-Negative Breast Cancer Risk Genes Identified by Multigene Hereditary Cancer Panel Testing. *Journal of the National Cancer Institute.* 2018. 110(8), 855–862.
27. Good CR, Panjarian S, Kelly AD, Madzo J, Patel B, Jelinek J, et.al. TET1-Mediated hypomethylation activates oncogenic signaling in triple-negative breast cancer. *Cancer Res.* 2018;78: 4126–37.
28. Ranganathan P, Weaver K L, & Capobianco A J. Notch signalling in solid tumours: a little bit of everything but not all the time. *Nature Rev. Cancer.* 2011.11, 338–351.
29. King TD, Suto MJ, Li Y. The Wnt/beta-catenin signaling pathway: a potential therapeutic target in the treatment of triple negative breast cancer. *J Cell Biochem.* 2012; 113:13–8.
30. Mah KM, Weiner JA. Regulation of Wnt signaling by protocadherins. *Semin Cell Dev Biol.* 2017; 69:158–171.

31. Jansson S, Bendahl PO, Grabau DA, et al. The three receptor tyrosine kinases c-KIT, VEGFR2 and PDGFR α , closely spaced at 4q12, show increased protein expression in triple-negative breast cancer. *PLoS One*. 2014;9(7): e102176.
32. Pragna Lakshmi T, Vajravijayan S, Moumita M. et al. A novel guaiane sesquiterpene derivative, guai-2-en-10 α -ol, from *Ulva fasciata* Delile inhibits EGFR/PI3K/Akt signaling and induces cytotoxicity in triple-negative breast cancer cells. *Mol Cell Biochem*. 2018. 438: 123.
33. Ciruelos Gil EM. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer Treat Rev*. 2014;40(7):862–871.
34. Borbely G, Haldosen LA, Dahlman-Wright K, Zhao C. Induction of USP17 by combining BET and HDAC inhibitors in breast cancer cells. *Oncotarget*. 2015; 6(32):33623-35
35. Giltane JM, Balko JM. Rationale for Targeting the Ras/MAPK pathway in Triple-Negative breast cancer. *Discov Med*. 2014; 17(95): 275-83.
36. Tao W, Sun W, Zhu H, Zhang J. Knockdown of long non-coding RNA TP73-AS1 suppresses triple negative breast cancer cell vasculogenic mimicry by targeting miR-490-3p/TWIST1 axis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;504(4):629-634.
37. Kim JY, Park K, Jung HH, et al. Association between mutation and expression of TP53 as a potential prognostic marker of triple-negative breast cancer. *Cancer Res Treat*. 2016.
38. Ling BB, Watt K, Banerjee S, Newsted D, Truesdell P, Adams J, Sidhu SS, Craig AWB. A novel immunotherapy targeting MMP-14 limits hypoxia, immune suppression and metastasis in triple-negative breast cancer models. *Oncotarget*. 2017; 8:58372–85.
39. Matakah F, Martin E, Zhao H, Agazie YM. SHP2 acts both upstream and downstream of multiple receptor tyrosine kinases to promote basal-like and triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2016;18(1):2.
40. Klahan S, Wu MS, Hsi E, Huang CC, Hou MF, Chang WC. Computational analysis of mRNA expression profiles identifies the ITG family and PIK3R3 as crucial genes for regulating triple negative breast cancer cell migration. *Biomed Res Int*. 2014;2014: 536591.
41. Nagelkerke A, van Kuijk SJ, Martens JW, Sweep FC, Hoogerbrugge N, Bussink J, Span PN. Poor prognosis of constitutive γ -H2AX expressing triple-negative breast cancers is associated with telomere length. *Biomark Med*. 2015; 9:383–390.
42. Ortiz-Martínez F, Gutiérrez-Aviñó FJ, Sanmartín E, Pomares-Navarro E, Villalba-Riquelme C, García-Martínez A. Association of Notch pathway down-regulation with Triple Negative/Basal-like breast carcinomas and high tumor-infiltrating FOXP3+ Tregs. *Exp Mol Pathol*. 2016;100(3):460-8.
43. Wang K, Zhang Q, Li D, Ching K, Zhang C, Zheng X, Ozeck M, Shi S, Li X, Wang H, Rejto P, Christensen J, Olson P. PEST Domain Mutations in Notch Receptors Comprise an Oncogenic Driver Segment in Triple-Negative Breast Cancer Sensitive to a γ -Secretase Inhibitor. *Clin Cancer Res*. 2015; 21:1487–96.
44. Kim SH, Hahm ER, Arlotti JA, et al. Withaferin A inhibits in vivo growth of breast cancer cells accelerated by Notch2 knockdown. *Breast Cancer Res Treat*. 2016;157(1):41–54.

45. Clementz AG, Rogowski A, Pandya K, Miele L, Osipo C. NOTCH-1 and NOTCH-4 are novel gene targets of PEA3 in breast cancer: novel therapeutic implications. *Breast Cancer Res.* 2011;13(3): R63.
46. Jia Z, Wan F, Zhu Y, et al. Forkhead-box series expression network is associated with outcome of clear-cell renal cell carcinoma. *Oncol Lett.* 2018;15(6):8669–8680.
47. Kawazu M, Kojima S, Ueno T, et al. Integrative analysis of genomic alterations in triple-negative breast cancer in association with homologous recombination deficiency. *PLoS Genet.* 2017;13(6): e1006853.
48. Hu ZY, Xie N, Tian C, et al. Identifying Circulating Tumor DNA Mutation Profiles in Metastatic Breast Cancer Patients with Multiline Resistance. *EBioMedicine.* 2018; 32:111–118.
49. Horiuchi D, Camarda R, Zhou AY, et al. PIM1 kinase inhibition as a targeted therapy against triple-negative breast tumors with elevated MYC expression. *Nat Med.* 2016;22(11):1321–1329.
50. Horiuchi D, Kusdra L, Huskey NE, et al. MYC pathway activation in triple-negative breast cancer is synthetic lethal with CDK inhibition. *J Exp Med.* 2012;209(4):679–696.
51. Han L, Mao Y, Wang X, Sun Y, Wang L, Gao Y. MiR-27a down-regulating expression of ZNF139 and inhibiting invasion and migration of lung cancer cells by Rho-ROCK signaling pathway. *Int J Clin Exp Pathol* 2017;10(2):2307-2317.
52. Wang PS, Chou CH, Lin CH, Yao YC, Cheng HC, Li HY, Chuang YC, Yang CN, Ger LP, Chen YC, et al: A novel long non-coding RNA linc-ZNF469-3 promotes lung metastasis through miR-574-5p-ZEB1 axis in triple negative breast cancer. *Oncogene.* 37:4662–4678. 2018.
53. Kim JY, Lee E, Park K, et al. Clinical implications of genomic profiles in metastatic breast cancer with a focus on TP53 and PIK3CA, the most frequently mutated genes. *Oncotarget.* 2017;8(17):27997–28007.
54. Rangel R, Guzman-Rojas L, Kodama T, Kodama M, Newberg JY, Copeland NG. Identification of new tumor suppressor genes in triple-negative breast cancer. *Cancer Res.* 2017(77).
55. Bhatia, M., Girdhar, A., Tiwari, A. et al. Implications of a novel *Pseudomonas* species on low density polyethylene biodegradation: an in vitro to in silico approach *SpringerPlus* (2014) 3: 497.
56. Duan J, Zhen T, Liang J, Tang J, Zhou Y, Gao H, Zhang F, Li H, Shi H, Han A. The clinicopathological significance of ZNF10 in invasive ductal carcinoma of the breast. *Int J Clin Exp Pathol.* 2018;11(6):2968-2979.
57. Jiang L, Liang QL, Liang WM, et al. Construction of a recombinant eukaryotic expression vector containing DNM3 gene and its expression in colon cancer cells. *Onco Targets Ther.* 2018;11: 6665–6671.
58. Lott ST, Chen N, Chandler DS, et al. DEAR1 is a dominant regulator of acinar morphogenesis and an independent predictor of local recurrence-free survival in early-onset breast cancer. *PLoS Med.* 2009;6(5): e1000068.
59. Li Q, Jin W, Cai Y, Yang F, Chen E, Ye D, et al: Regulator of G protein signaling 20 correlates with clinicopathological features and prognosis in triple-negative breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017. 485:693–697.

60. Wang Ch, Wang Ch, Wei Z, Li Y, Wang W, Li X, et al. Suppression of motor protein KIF3C expression inhibits tumor growth and metastasis in breast cancer by inhibiting TGF- β signaling. *Cancer Lett.* 2015;368(1):105-114.
61. Jiang YZ, Yu KD, Peng WT, Di GH, Wu J, Liu GY, et al. Enriched variations in TEK4 and breast cancer resistance to Paclitaxel. *Nat. Commun.* 2014(5): 3802.
62. Kühn S, Erdmann C, Kage F, Block J, Schwenkmezger L, Steffen A, et al. The structure of FMNL2-Cdc42 yields insights into the mechanism of lamellipodia and filopodia formation. *Nat Commun.* 2015; 6:7088.
63. Lips E H, Michaut M, Hoogstraat M, Mulder L, Besselink N J, Koudijs M J, et al. Next generation sequencing of triple negative breast cancer to find predictors for chemotherapy response. *Breast Cancer Res.* 2015;17(1):134.
64. Kurian A W, Hare E E, Mills M A, Kingham K E, McPherson L, Whittemore A S, et al. Clinical evaluation of a multiple-gene sequencing panel for hereditary cancer risk assessment. *J Clin Oncol.* 2014;32(19):2001–2009.
65. Lebovitz C B, Robertson A G, Goya R, Jones S J, Morin R D, Marra M A, et al. Cross-cancer profiling of molecular alterations within the human autophagy interaction network. *Autophagy.* 2015;11(9):1668–1687.
66. Huo Y, Su T, Cai Q, Macara IG. An in Vivo Gain-of-Function Screen Identifies the Williams-Beuren Syndrome Gene GTF2IRD1 as a Mammary Tumor Promoter. *Cell Rep.* 2016;15(10):2089–2096.
67. Van Geldermalsen M, Wang Q, Nagarajah R, Marshall A D, Thoeng A, Gao D, et al. ASCT2/SLC1A5 controls glutamine uptake and tumour growth in triple-negative basal-like breast cancer. *Oncogene.* 2016;35(24):3201–3208.
68. Bhutia YD, Ganapathy V. Glutamine transporters in mammalian cells and their functions in physiology and cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1863(10):2531–2539.
69. Bhattacharya R, Mukherjee N, Dasgupta H, Islam MS, Alam N, Roy A, et al. Frequent alterations of SLIT2-ROBO1-CDC42 signalling pathway in breast cancer: clinicopathological correlation. *J Genet.* 2016;95(3):551-63.
70. Han W. WDR41's structure and function in breast cancer [master's degree]. China: Xiamen University; 2017.
71. Yu X, Zhang X, Zhang Y, Jiang G, Mao X, Jin F. Cytosolic TMEM88 promotes triple-negative breast cancer by interacting with Dvl. *Oncotarget.* 2015;6(28):25034–25045.
72. Zou YF, Xie CW, Yang SX, Xiong JP. AMPK activators suppress breast cancer cell growth by inhibiting DVL3-facilitated Wnt/ β -catenin signaling pathway activity. *Mol Med Rep.* 2017, 15: 899–907.
73. Cheng CL, Thike AA, Tan SY, Chua PJ, Bay BH, Tan PH. Expression of FGFR1 is an independent prognostic factor in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2015. 151:99–111.

74. Hallinan N, Finn S, Cuffe S, Rafee S, O'Byrne K, Gately K. Targeting the fibroblast growth factor receptor family in cancer. *Cancer Treat Rev.* 2016; 46:51–62.
75. Miyagawa Y, Matsushita H, Suzuki M, Komatsu T, Yoshimaru R, Kimura A, et.al. Frequent downregulation of LRRC26 by epigenetic alterations is involved in the malignant progression of triple-negative breast cancer. *Int. J. Oncol.* 2018.
76. Carraro DM1, Koike Folgueira MA, Garcia Lisboa BC, Ribeiro Olivieri EH, Vitorino Krepschi AC, De Carvalho AF, et al. Comprehensive Analysis of BRCA1, BRCA2 and TP53 Germline Mutation and Tumor Characterization: A Portrait of Early-Onset Breast Cancer in Brazil. *PLoS ONE.* 2013;8(3): e57581.
77. B. Newcomb, and Y.A. Hannun, "Sphingolipids as Mediators of Breast Cancer Progression, Metastasis, Response and Resistance to Chemotherapy,". *Bioactive Sphingolipids in Cancer Biology and Therapy.* 2015:81-106.
78. Ren D, Zhu X, Kong R, Zhao Z, Sheng J, Wang J, et al. Targeting Brain-Adaptive Cancer Stem Cells Prohibits Brain Metastatic Colonization of Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Res.* 2018;78(8):2052–2064.
79. De Brot M, Rocha RM, Soares FA, Gobbi H, et al. Prognostic impact of the cancer stem cell related markers ALDH1 and EZH2 in triple negative and basal-like breast cancers. *Pathology* 2012; 44:303–312.
80. Ferrari N, Mohammed ZM, Nixon C, Mason SM, Mallon E, McMillan DC, et al. Expression of runx1 correlates with poor patient prognosis in triple negative breast cancer. *PLoS One* 2014; 9: e100759.
81. Neumeister VM, Sullivan CA, Lindner R, Lezon-Geyda K, Li J, Zavada J, et al. Hypoxia-induced protein CAIX is associated with somatic loss of BRCA1 protein and pathway activity in triple negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2013; 136: 67– 75.
82. Xu WH, Liu ZB, Yang C, Qin W, Shao ZM. Expression of dickkopf-1 and beta-catenin related to the prognosis of breast cancer patients with triple negative phenotype. *PLoS One.* 2014;9(7): e102404.
83. He Q, Jing H, Liaw L, Gower L, Vary C, Hua S, et al. Suppression of Spry1 inhibits triple-negative breast cancer malignancy by decreasing EGF/EGFR mediated mesenchymal phenotype. *Sci Rep.* 2017; 7:46791.
84. Miguel-Soca P, Argüelles González I, Peña González M. Factores genéticos en la carcinogénesis mamaria. *Rev Finlay.* 2016; 6(4):299-316.
85. Girgert R, Emons G, Gründker C. Inhibition of GPR30 by estriol prevents growth stimulation of triple-negative breast cancer cells by 17 β -estradiol. *BMC Cancer.* 2014; 14:935.
86. Chen X, Iliopoulos D, Zhang Q, Tang Q, Greenblatt MB, Hatzia Apostolou, M, et al. XBP1 promotes triple-negative breast cancer by controlling the HIF1 α pathway. *Nature.* 2014;508(7494):103–107.

87. Chu IM, Lai WC, Aprelikova O, El Touny LH, Kouros-Mehr H, Green JE. Expression of GATA3 in MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells induces a growth inhibitory response to TGF β . *PLoS One*. 2013;8(4): e61125.
88. Kong C, Wang C, Wang L, Ma M, Niu C, Sun X, et al. NEDD9 is a positive regulator of epithelial-mesenchymal transition and promotes invasion in aggressive breast cancer. *PLoS One*. 2011;6(7): e22666.
89. Lee S T, Feng M, Wei Y, Li Z, Qiao Y, Guan P, et al. Protein tyrosine phosphatase UBASH3B is overexpressed in triple-negative breast cancer and promotes invasion and metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(27):11121–11126.
90. Kwon M J, Han J, Seo J H, Song K, Jeong H M, Choi JS, et al. CD24 Overexpression Is Associated with Poor Prognosis in Luminal A and Triple-Negative Breast Cancer. *PLoS One*. 2015;10(10): e0139112.
91. Wright H J, Hou J, Xu B, Cortez M, Potma EO, Tromberg B J, et al. CDCP1 drives triple-negative breast cancer metastasis through reduction of lipid-droplet abundance and stimulation of fatty acid oxidation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(32): E6556–E6565.
92. Gracio F, Burford B, Gazinska P, Mera A, Mohd Noor A, Marra P, et al. Splicing imbalances in basal-like breast cancer underpin perturbation of cell surface and oncogenic pathways and are associated with patients' survival. *Sci Rep*. 2017; 7:40177.
93. Torigoe T, Asanuma H, Nakazawa E, Tamura Y, Hirohashi Y, Yamamoto E, et al. Establishment of a monoclonal anti-pan HLA class I antibody suitable for immunostaining of formalin-fixed tissue: unusually high frequency of down-regulation in breast cancer tissues. *Pathol Int* 2012; 62: 303– 8.
94. Atoum MF, Tanashat RQ, Mahmoud SA. Negative association of the HLA-DQB1*02 alleles with breast cancer development among Jordanians. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(17):7337–7341.
95. Wu J, Liu P, Tang H, Shuang Z, Qiu Q, Zhang L, et al. FOXP2 promotes tumor proliferation and metastasis by targeting GRP78 in triple-negative breast cancer. *Curr Cancer Drug Targets*. 2018;18(4):382–389.
96. Huang RQ, Wang SQ, Zhu QB, Guo SC, Shi DL, Chen F, et al. Knockdown of PEBP4 inhibits human glioma cell growth and invasive potential via ERK1/2 signaling pathway. *Mol. Carcinog*. 2019(58): 135-143.
97. Fanayan S, Shehata M, Agterof AP, McGuckin MA, Alonso MA, Byrne JA. Mucin 1 (MUC1) is a novel partner for MAL2 in breast carcinoma cells. *BMC Cell Biol*. 2009; 10:7.
98. Reidenbach AG. Activities and Activators of the Atypical Kinase COQ8 and its Role in Coenzyme Q Biosynthesis. UNIVERSITY OF WISCONSIN – MADISON. EEUU. Abril 2017.
99. Buchman CD. DISCOVERY AND CHARACTERIZATION OF SMALL MOLECULE INHIBITORS OF THE ALDEHYDE DEHYDROGENASE 1/2 FAMILY. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Indiana University. EEUU. December 2016.

100. Bajikar SS, Wang CC, Borten MA, Pereira EJ, Atkins KA, Janes KA. Tumor-Suppressor Inactivation of GDF11 Occurs by Precursor Sequestration in Triple-Negative Breast Cancer. *Dev Cell*. 2017;43(4):418–435.e13.
101. Santarpia L, Qi Y, Stemke-Hale K, Wang B, Young E J, Booser D J, et al. Mutation profiling identifies numerous rare drug targets and distinct mutation patterns in different clinical subtypes of breast cancers. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;134(1):333–343.
102. Rose M, Kloten V, Noetzel E, Gola L, Ehling J, Heide T, et al. ITIH5 mediates epigenetic reprogramming of breast cancer cells. *Mol Cancer*. 2017;16(1):44.
103. Tian L, Zhao Y, Truong MJ, Lagadec C, Bourette RP. Synuclein gamma expression enhances radiation resistance of breast cancer cells. *Oncotarget*. 2018;9(44):27435–27447.
104. Subramanian A, Andronache A, Li YC, Wade M. Inhibition of MARCH5 ubiquitin ligase abrogates MCL1-dependent resistance to BH3 mimetics via NOXA. *Oncotarget*. 2016;7(13):15986–16002.
105. Di L J, Byun JS, Wong MM, Wakano C, Taylor T, Bilke S, et al. Genome-wide profiles of CtBP link metabolism with genome stability and epithelial reprogramming in breast cancer. *Nat Commun*. 2013; 4:1449.
106. Dai F, Xuan Y, Jin JJ, Yu S, Long Z W, Cai H, et al. CtBP2 overexpression promotes tumor cell proliferation and invasion in gastric cancer and is associated with poor prognosis. *Oncotarget*. 2017;8(17):28736–28749.
107. Do SI, Kim K, Kim DH, Chae S W, Park Y L, Park C H, et al. Associations between the Expression of Mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) and Clinicopathologic Parameters of Human Breast Ductal Carcinomas. *J Breast Cancer*. 2013;16(2):152–158.
108. Siroy A, Abdul-Karim F W, Miedler J, Fong N, Fu P, Gilmore H, et al. MUC1 is expressed at high frequency in early-stage basal-like triple-negative breast cancer. *Hum Pathol*. 2013;44(10):2159–2166.
109. Walsh M D, Cummings MC, Pearson SA, Clendenning M, Walters RJ, Nagler B, et al. Lynch syndrome-associated breast cancers do not overexpress chromosome 11-encoded mucins. *Mod Pathol*. 2013;26(7):944–954.
110. Song L, Xiao Y. Downregulation of hsa_circ_0007534 suppresses breast cancer cell proliferation and invasion by targeting miR-593/MUC19 signal pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018: 1-8.
111. Zhang B, Sun J, Yao X, Li J, Tu Y, Yao F, et al. Knockdown of B7H6 inhibits tumor progression in triple-negative breast cancer. *Oncol Lett*. 2018;16(1):91–96.
112. Ward A K, Mellor P, Smith S E, Kendall S, Just N A, Vizeacoumar F S, et al. Epigenetic silencing of CREB3L1 by DNA methylation is associated with high-grade metastatic breast cancers with poor prognosis and is prevalent in triple negative breast cancers. *Breast Cancer Res*. 2016;18(1):12.
113. Stewart MK, Plante I, Penuela S, Laird DW. Loss of panx1 impairs mammary gland development at lactation: implications for breast tumorigenesis. *PLoS One*. 2016;11: e0154162.

114. Tuna M, Smid M, Zhu D, Martens JW, Amos CI. Association between acquired uniparental disomy and homozygous mutations and HER2/ER/PR status in breast cancer. *PLoS One*. 2010;5(11): e15094.
115. Cheng D, Kong H, Li Y. TMRSS4 as a poor prognostic factor for triple-negative breast cancer. *Int J Mol Sci*. 2013;14(7):14659–14668.
116. Scheiber MN, Watson PM, Rumboldt T, et al. FLI1 expression is correlated with breast cancer cellular growth, migration, and invasion and altered gene expression. *Neoplasia*. 2014;16(10):801–813.
117. Weinberg RS, Grecco MO, Ferro GS, et al. A phase II dose-escalation trial of perioperative desmopressin (1-desamino-8-d-arginine vasopressin) in breast cancer patients. *Springerplus*. 2015; 4:428.
118. Benabu. J.-C., Stoll. F, Koch A, Molie` re. S, Bellocq J.-P, Mathelin. C. De-escalating systemic therapy in triple negative breast cancer: The example of secretory carcinoma. *J Gynecol Obstet Hum Reprod xxx*. 2018.
119. Yao. S, Ambrosone C. B. Associations between vitamin D deficiency and risk of aggressive breast cancer in African-American women. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 136 (2013) 337– 341. 2013.
120. Morcillo. S, Noblejas. M, Nieto. C, Perez. J, Nuncia.M, Györfy. B. Epigenetic mutational landscape in breast cancer: role of the histone methyltransferase gene KMT2D in triple negative tumors. *bioRxiv*. 2018.
121. Ogony J, Choi HJ, Lui A, Cristofanilli M, Lewis-Wambi J. Interferon-induced transmembrane protein 1 (IFITM1) overexpression enhances the aggressive phenotype of SUM149 inflammatory breast cancer cells in a signal transducer and activator of transcription 2 (STAT2)-dependent manner. *Breast Cancer Res*. 2016;18(1):25.
122. Asano Y, Takeuchi T, Okubo H, Saigo C, Kito Y, Iwata Y. Nuclear localization of LDL receptor-related protein 1B in mammary gland carcinogenesis. *Springer Nature*. 2019.
123. Pal A, Donato NJ. Ubiquitin-specific proteases as therapeutic targets for the treatment of breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2014;16(5):461.
124. Hou MF, Chen PM, Chu PY. LGR5 overexpression confers poor relapse-free survival in breast cancer patients. *BMC Cancer*. 2018;18(1):219.
125. Liu X, Wang T, Wang Y, Chen Z, Hua D, Yao X. Orai1 is critical for notch-driven aggressiveness under hypoxic conditions in triple-negative breast cancers. *Bbadis*. 2018; 1894(4A): 975-986.
126. Kahlert C, Lerbs T, Pecqueux M, Herpel E, Hoffmeister M, Jansen L. Overexpression of SIX1 is an independent prognostic marker in stage I-III colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2015;137(9):2104-13.
127. Craig, D. W. et al. Genome and transcriptome sequencing in prospective metastatic triple-negative breast cancer uncovers therapeutic vulnerabilities. *Mol. Cancer Ther*. 2013. 12, 104–116.

128. Wang Y, Xu H, Zhu B, Qiu Z, Lin Z. Systematic identification of the key candidate genes in breast cancer stroma. *Cell Mol Biol Lett*. 2018; 23:44.
129. Clark AR, Toker A. Signalling specificity in the Akt pathway in breast cancer. *Biochem Soc Trans*. 2014;42(5):1349-55
130. Gomez-Cambronero J. Lack of effective translational regulation of PLD expression and exosome biogenesis in triple-negative breast cancer cells. *Cancer Metastasis Rev.*, 2018.37:491-507.
131. Kabil N, Bayraktar R, Kahraman N, Mokhlis H, Calin G, Lopez-Berestein G, Ozpolat G. Thymoquinone inhibits cell proliferation, migration, and invasion by regulating the elongation factor 2 kinase (eEF-2K) signaling axis in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*,2018. 171 (3): 593-605.
132. Noblejas-López MDM, Morcillo-García S, Nieto-Jiménez C, et al. Evaluation of transcriptionally regulated genes identifies NCOR1 in hormone receptor negative breast tumors and lung adenocarcinomas as a potential tumor suppressor gene. *PLoS One*. 2018;13(11): e0207776.
133. Yu KD, Zhu R, Zhan M, et al. Identification of prognosis-relevant subgroups in patients with chemoresistant triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19(10):2723–2733.
134. Du, C., Mark, D., Wappenschmidt, B. et al. A tandem duplication of BRCA1 exons 1–19 through DHX8 exon 2 in four families with hereditary breast and ovarian cancer syndrome. *Breast Cancer Res Treat*. 2018. 172: 561.
135. Atanassov BS, Mohan RD, Lan X, et al. ATXN7L3 and ENY2 Coordinate Activity of Multiple H2B Deubiquitinases Important for Cellular Proliferation and Tumor Growth. *Mol Cell*. 2016;62(4):558–571.
136. Khongkow, Pasarat. The role of FOXM1 in breast cancer chemotherapy resistance. Medicine PhD theses – London.2015.
137. Feng Z, Zhang L, Zhou J, et al. mir-218-2 promotes glioblastomas growth, invasion and drug resistance by targeting CDC27. *Oncotarget*. 2017;8(4):6304–6318.
138. Ferrer I, Verdugo-Sivianes EM, Castilla MA, Melendez R, et al. Loss of the tumor suppressor spinophilin (PPP1R9B) increases the cancer stem cell population in breast tumors. *Oncogene*. 2015.
139. Goode G, Pratap S, Eltom SE. Depletion of the aryl hydrocarbon receptor in MDA-MB-231 human breast cancer cells altered the expression of genes in key regulatory pathways of cancer. *PLoS One*. 2014;9(6): e100103.
140. Barnes DR, Antoniou AC. Unravelling modifiers of breast and ovarian cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: update on genetic modifiers. *Journal of Internal Medicine*, 2012, 271; 331–343.
141. Hu K, Law JH, Fotovati A, Dunn SE. Small interfering RNA library screen identified polo-like kinase-1 (PLK1) as a potential therapeutic target for breast cancer that uniquely eliminates tumor-initiating cells. *Breast Cancer Res*. 2012;14(1): R22.

142. Nagata T, Shimada Y, Sekine S, Moriyama M, Hashimoto I, Matsui K, Okumura T, Hori T, Imura J, Tsukada K. KLF4 and NANOG are prognostic biomarkers for triple-negative breast cancer. *Breast cancer*. 2017;24: 326–335.
143. Rui X, Li Y, Jin F, Li F. TMPRSS3 is a novel poor prognostic factor for breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(5):5435–5442.
144. Chan KK, Matchett KB, Coulter JA, et al. Erythropoietin drives breast cancer progression by activation of its receptor EPOR. *Oncotarget*. 2017;8(24):38251–38263.
145. Nicolussi, A., D'inzeo, S., Capalbo, C., Giannini, G., Coppa, A. "The role of peroxiredoxins in cancer (Review)". *Molecular and Clinical Oncology*. 2017(6.2): 139-153.
146. Luthra S, Chandran U, Diergaarde B, Becich M, Lee A and Neumann C, Expression of reactive species related genes is associated with patient survival in luminal B breast cancer, *Free Radical Biology and Medicine*. 2018.
147. Bean G, Krings G, Otis C, Solomon D, García J, Zante A, et al. CRTC1-MAML2 Fusion in Mucoepidermoid Carcinoma of the Breast. *Histopathology*. 2019 Feb;74(3):463-473.
148. Su CH, Lin IH, Tzeng TY, Hsieh WT, Hsu MT. Regulation of IL-20 Expression by Estradiol through KMT2B-Mediated Epigenetic Modification. *PLoS One*. 2016;11(11): e0166090.
149. E. Higashi, T. Fukami, M. Itoh, S. Kyo, M. Inoue, T. Yokoi, et al. Human CYP2A6 is induced by estrogen via estrogen receptor. *Drug Metab Dispos*, 2007. 35:1935-1941.
150. Grellety T, Callens C, Richard E, Briaux A, Vélasco V, Pulido M, et al. Enhancing Abiraterone Acetate Efficacy in Androgen Receptor-positive Triple-negative Breast Cancer: Chk1 as a Potential Target. *Clin Cancer Res*. 2019 Jan 15;25(2):856-867.
151. Panpan AN, Jiexin LI, Linlin LU, Yingmin WU, Yuyi Ling, Jun Du, Zhuojia Chen and Hongsheng Wang, Histone deacetylases 8 triggers the migration of triple negative breast cancer cells via regulation of YAP signals. *European Journal of Pharmacology*. 2018.
152. Chen Y-T, Ross DS, Chiu R, Zhou XK, Chen Y-Y, et al. (2011) Multiple Cancer/Testis Antigens Are Preferentially Expressed in Hormone-Receptor Negative and High-Grade Breast Cancers. *PLoS ONE*. 2010. 6(3): e17876.
153. Viedma-Rodríguez R., Ruiz Esparza-Garrido R., Baiza-Gutman L.A. et al. Involvement of multiple cellular pathways in regulating resistance to tamoxifen in BIK-suppressed MCF-7 cells. *Tumor Biol*. 2015. 36: 6991.
154. Domagala P1, Huzarski T, Lubinski J, Gugala K, Domagala W. PARP-1 expression in breast cancer including BRCA1-associated, triple negative and basal-like tumors: possible implications for PARP-1 inhibitor therapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;127(3):861-9.
155. Xiang T, Fan Y, Li C, et al. DACT2 silencing by promoter CpG methylation disrupts its regulation of epithelial-to-mesenchymal transition and cytoskeleton reorganization in breast cancer cells. *Oncotarget*. 2016;7(43):70924–70935.
156. Noh, S., Kim, D.H., Jung, W.H. et al. Expression levels of serine/glycine metabolism-related proteins in triple negative breast cancer tissues. *Tumor Biol*. 2014; 35: 4457.

157. Li D, Wang H, Song H, et al. The microRNAs miR-200b-3p and miR-429-5p target the LIMK1/CFL1 pathway to inhibit growth and motility of breast cancer cells. *Oncotarget*. 2017;8(49):85276–85289.
158. Lee NS, Evgrafov OV, Souaiaia T, Bonyad A, Herstein J, Lee JY, Kim J, Ning Y, Sixto M, Weitz AC, et al: Non-coding RNAs derived from an alternatively spliced REST transcript (REST-003) regulate breast cancer invasiveness. *Sci Rep*. 201; 5:11207.
159. Purwaha P, Gu F, Piyarathna DWB, et al. Unbiased Lipidomic Profiling of Triple-Negative Breast Cancer Tissues Reveals the Association of Sphingomyelin Levels with Patient Disease-Free Survival. *Metabolites*. 2018;8(3):41.
160. Rooney M, Shukla S, Wu C, Getz G, Hacohen N. Molecular and genetic properties of tumors associated with local immune cytolytic activity. *Cell*. 2015; 160(1-2): 48–61.
161. Dong P, Yu B, Pan L, Tian X, Liu F. Identification of Key Genes and Pathways in Triple-Negative Breast Cancer by Integrated Bioinformatics Analysis. *Biomed Res Int*. 2018; 2018:2760918.
162. Sulaiman A, McGarry S, Lam KM, et al. Co-inhibition of mTORC1, HDAC and ESR1 α retards the growth of triple-negative breast cancer and suppresses cancer stem cells. *Cell Death Dis*. 2018;9(8):815.
163. Yao H, He G, Yan S, et al. Triple-negative breast cancer: is there a treatment on the horizon? *Oncotarget*. 2017;8(1):1913–1924.
164. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 03 Ag 2019]. Carboplatin: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA448803/clinicalAnnotation>
165. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 03 Ag 2019]. Cyclophosphamide: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA449165/clinicalAnnotation>
166. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 03 Ag 2019]. Methotrexate: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA450428/clinicalAnnotation>
167. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 03 Ag 2019]. Fluorouracil: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA128406956/clinicalAnnotation>
168. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 04 Ag 2019]. Capecitabine: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA448771/clinicalAnnotation>
169. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 04 Ag 2019]. Gemcitabine: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA449748/clinicalAnnotation>

170. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 04 Ag 2019]. Doxorubicin: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA449412/clinicalAnnotation>
171. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 04 Ag 2019]. Epirubicin: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA449476/clinicalAnnotation>
172. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 04 Ag 2019]. Paclitaxel: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA450761/clinicalAnnotation>
173. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 04 Ag 2019]. Docetaxel: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA449383/clinicalAnnotation>
174. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 04 Ag 2019]. Vinorelbine: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA451881/clinicalAnnotation>
175. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 04 Ag 2019]. Ixabepilone: Clinical Annotations. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/chemical/PA165110439/clinicalAnnotation>
176. Goldman AD, Landweber LF. What Is a Genome? PLoS Genet. 2016;12(7): e1006181. 2016.
177. Fine R. Lessons from the Human Genome Project. Harvard University; 27 de Febrero. 2019. [Citado el 09 Ag 2019]. Disponible en: [http://sitn.hms.harvard.edu/flash/2019/lessons-from-the-human-genome-project/#:~:text=The%20Human%20Genome%20Project%20made,which%20can%20differ%20between%20people\).](http://sitn.hms.harvard.edu/flash/2019/lessons-from-the-human-genome-project/#:~:text=The%20Human%20Genome%20Project%20made,which%20can%20differ%20between%20people).)
178. Coffey, A., Kokocinski, F., Calafato, M. et al. The GENCODE exome: sequencing the complete human exome. Eur J Hum Genet 19.2011. 827–831.
179. Hintzsche JD, Robinson WA, Tan AC. A Survey of Computational Tools to Analyze and Interpret Whole Exome Sequencing Data. Int J Genomics. 2016; 2016:7983236.
180. Suwinski P, Ong C, Ling MHT, Poh YM, Khan AM and Ong HS. Advancing Personalized Medicine Through the Application of Whole Exome Sequencing and Big Data Analytics. Front. Genet. 2019. 10:49.
181. Meena, N., Mathur, P., Medicherla, K. M. and Suravajhala, P. A Bioinformatics Pipeline for Whole Exome Sequencing: Overview of the Processing and Steps from Raw Data to Downstream Analysis. Bio-protocol Bio. 2018. 101: e2805.
182. Diniz WJ, Canduri F. Review-article bioinformatics: An overview and its applications. Genet Mol Res. 2017;16
183. Andrews, S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. 2010. Disponible en: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>

184. Nayariseri A, Yadav M, Bhatia M, Pandey A, Elkunchwar A, Paul N, Sharma D, Kumar G: Impact of Next-Generation Whole-Exome sequencing in molecular diagnostics. *Drug Invention Today* 2013, 5(4):327-334.
185. Pabinger S, Dander A, Fischer M, et al. A survey of tools for variant analysis of next-generation genome sequencing data. *Brief Bioinform.* 2014;15(2):256–278.
186. Zheng-Bradley X, Streeter I, Fairley S, Richardson D, Clarke L, Flicek P. The 1000 Genomes Project Consortium, Alignment of 1000 Genomes Project lee a la asamblea de referencia GRCh38. *GigaScience.* 2017. 6:(7).
187. Hanson, C., Cairns, J., Wang, L., and Sinha, S. Principled multi-omic analysis reveals gene regulatory mechanisms of phenotype variation. *Genome Res.* 2018. 28, 1207–1216.
188. COSMIC: The catalogue of somatic mutations in cancer. NOTCH2. 2018. Disponible en: <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/mutation/overview?id=88388810>
189. Lo Ch, Chain P. Rapid evaluation and quality control of next generation sequencing data with FaQCs. *BMC Bioinformatics.* 2014; 15: 366.
190. Krueger F. Trim Galore! Disponible en:
[http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/trim_galore/]
191. Lindgreen S. AdapterRemoval: AdapterRemoval: Easy Cleaning of Next-Generation Sequencing Reads. *BMC Res Notas.* 2012; 5: 337. Publicado el 2 de julio de 2012.
192. Hsin-Fu Liu O. RNAseq Analysis of Gastric Bacteria in Helicobacter Pylori-Associated Carcinogenesis. University of Skövde. Master of Bioinformatics. 2014.
193. Anamika K, Verma S, Jere A, Desai A. Transcriptomic Profiling Using Next Generation Sequencing - Advances, Advantages, and Challenges. *Next Generation Sequencing - Advances, Applications and Challenges.* 2016; 9:7355–7365.
194. José M. Abuín, Juan C. Pichel, Tomás F. Peña, Jorge Amigo, BigBWA: acercarse al alineador de Burrows – Wheeler a las tecnologías de Big Data, *Bioinformática*, Volumen 31, Número 24, 15 de diciembre de 2015, páginas 4003–4005.
195. Meena N, Mathur P, Medicherla KM, Suravakhala P. A bioinformatics pipeline for whole exome sequencing: overview of the processing and steps from raw data to downstream analysis. *bioRxiv.* 2017.
196. Xuning Wang, Charles Tilford, Isaac Neuhaus, Gabe Mintier, Qi Guo, John N Feder, Stefan Kirov, CRISPR-DAV: CRISPR NGS Data Analysis and Visualization Pipeline, *Bioinformatics.* 2017. 33(23):3811–3812.
197. Li H, Handsaker B, Wysoker A, et al. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics.* 2009; 25 (16): 2078–2079.
198. Crysanto, D., Wurmser, C. y Pausch, H. Accurate sequence variant genotyping in cattle using variation-aware genome graphs. *Sel Evol.* 2019. 51: 21.
199. Jin J, Liu J, Yin Y, Li Z, Lu P, Xu Y, Zhang J, Cao P. PVCTools: parallel variation calling tools. *Heliyon.* 2019. 5(10): e02530

200. Herzeel C, Costanza P, Decap D, Fostier J, Verachtert W. EIPrep 4: A multithreaded framework for sequence analysis. *PLoS ONE*. 2019. 14(2): e0209523.
201. Chen Sun, Paul Medvedev, toward fast and accurate SNP genotyping from whole genome sequencing data for bedside diagnostics, *Bioinformatics*. 2019. 35 (3):415–420.
202. Wu, X., Heffelfinger, C., Zhao, H. *et al.* Benchmarking variant identification tools for plant diversity discovery. *BMC Genomics* 2019. 20: 701.
203. Thorvaldsdóttir H, Robinson JT, Mesirov JP. Integrative Genomics Viewer (IGV): high-performance genomics data visualization and exploration. *Brief Bioinform*. 2013;14(2):178–192.
204. Qu Z, Lau CW, Nguyen QV, Zhou Y, Catchpoole DR. Visual Analytics of Genomic and Cancer Data: A Systematic Review. *Cancer Inform*. 2019; 18:1176935119835546.
205. Koboldt DC, Larson DE, Wilson RK. Using VarScan 2 for Germline Variant Calling and Somatic Mutation Detection. *Curr Protoc Bioinformatics*. 2013; 44:15.4.1–15.4.17.
206. Di Nanni, N., Moscatelli, M., Gnocchi, M. y col. isma: An R package for the integrative analysis of mutations detected by multiple pipelines. *BMC Bioinformatics* (2019) 20: 107.
207. Koboldt DC, Zhang Q, Larson DE, et al. VarScan 2: Somatic Mutation and Copy Number Alteration Discovery in Cancer by Exome Sequencing. *Genome Res*. 2012; 22 (3): 568–576.
208. Sandmann, S., de Graaf, A., Karimi, M. et al. Evaluating Variant Calling Tools for Non-Matched Next-Generation Sequencing Data. *Sci Rep*. 2017 (7): 43169.
209. McLaren W, Gil L, Hunt SE, et al. The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biol*. 2016;17(1):122.
210. Cingolani P, Platts A, Wang le L, et al. A Program for Annotating and Predicting the Effects of Single Nucleotide Polymorphisms, SnpEff: SNPs in the Genome of *Drosophila Melanogaster* Strain w1118; iso-2; iso-3. *Vuela (Austin)*. 2012; 6 (2): 80–92.
211. Cingolani P, Patel V, Coon M, Nguyen T, Land S, Ruden D, et al. Using *Drosophila melanogaster* as a model for genotoxic chemical mutational studies with a new program, SnpSift. *Frontiers in Genetics*. 2012.
212. Flanagan S, Patch A, Ellard S. Using SIFT and PolyPhen to Predict Loss-of-Function and Gain-of-Function Mutations. *GENETIC TESTING AND MOLECULAR BIOMARKERS*. 2010. 14 (4)
213. Adzhubei I, Jordan DM, Sunyaev SR. Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. *Curr Protoc Hum Genet*. 2013. 7.
214. De Silva S, Tennekoon KH, Karunanayake EH. Overview of the genetic basis toward early detection of breast cancer. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2019. 11:71–80.
215. Larsen et al. Hereditary Breast Cancer: Clinical, Pathological and Molecular Characteristics. *Breast Cancer: Basic and Clinical Research* 2014;8 145–155.
216. Beitsch PD, Whitworth PW, Hughes K, Patel R, Rosen B, Compagnoni G. Underdiagnosis of Hereditary Breast Cancer: Are Genetic Testing Guidelines a Tool or an Obstacle? *J Clin Oncol*. 2019;37(6):453-460.

217. Mashima R, Okuyama T. The role of lipoxygenases in pathophysiology; new insights and future perspectives. *Redox Biol.* 2015. 6:297–310.
218. Medina-Aguilar R, Pérez-Plasencia C, Gariglio P, et al. DNA methylation data for identification of epigenetic targets of resveratrol in triple negative breast cancer cells. *Data Brief.* 2017; 11:169-182.
219. Zou JX, Duan Z, Wang J, Sokolov A, Xu J, Chen CZ, et al. Kinesin family deregulation coordinated by bromodomain protein ANCCA and histone methyltransferase MLL for breast cancer cell growth, survival and tamoxifen resistance. *Mol Cancer Res* (2014) 12:539–49.
220. Couch F, Akinhanmi M, Shimelis H, Hallberg E, Hu Ch, Hart S, et al. Risks of triple negative breast cancer associated with cancer predisposition gene mutations. *Journal of Clinical Oncology.* 2016. 34(15): 1513-1513.
221. Makoukji J, Raad M, Genadry K, et al. Association between CLN3 (Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, CLN3 Type) Gene Expression and Clinical Characteristics of Breast Cancer Patients. *Front Oncol.* 2015. 5:215.
222. Newcomb B, Rhein C, Mileva I, Ahmad§ R, Clarke C, Snider J, Obeid L and Hannun Y. Identification of an acid sphingomyelinase ceramide kinase pathway in the regulation of the chemokine CCL5. *J. Lipid Res.* 2018.
223. Chang PH, Hwang-Verslues WW, Chang YC, et al. Activation of Robo1 signaling of breast cancer cells by Slit2 from stromal fibroblast restrains tumorigenesis via blocking PI3K/Akt/ β -catenin pathway. *Cancer Res.* 2012; 72 (18): 4652-4661.
224. Yamamoto T, Oda K, Kubota T, Miyazaki K, Takenouti Y, Nimura Y, et al. Expression of p73 gene, cell proliferation and apoptosis in breast cancer: Immunohistochemical and clinicopathological study. *Oncol Rep.* 2002;9(4):729-35.
225. Murria R, Palanca S, de Juan I, et al. Immunohistochemical, genetic and epigenetic profiles of hereditary and triple negative breast cancers. Relevance in personalized medicine. *Am J Cancer Res.* 2015;5(7):2330–2343.
226. ARIZA Y, BRICENO I and ANCIZAR F. Treatment of breast cancer and pharmacogenetics. *Rev. colomb. biotecnol.* 2016.18 (1):121-134.
227. Tecza K, Pamula-Pilat J, Lanuszezwska J, Butkiewicz D, Grzybowska E. Pharmacogenetics of toxicity of 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer patients. *Oncotarget.* 2018;9(10):9114–9136.
228. Pongsavee M., Wisuwan K. and Tiwawech D. Association between ERCC1 polymorphism and the risk and clinicopathological features of breast cancer in thai women in the lower northeastern region. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2017. 18: 2999–3002.
229. Tsai C-W, Chang W-S, Shen T-C, Su C-H, Wang H-C, Liu L-C, et al. Contribution of excision repair cross-complementing group 1 genotypes to triple negative breast cancer risk. *PLoS ONE.* 2018. 13(8): e0202112.

230. Haroun F, Al-Shaar L, Habib RH, El-Saghir N, Tfayli A, Bazarbachi A, et al. Effects of CYP2B6 genetic polymorphisms in patients receiving cyclophosphamide combination chemotherapy for breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015;75(1):207–14.
231. Song Q, Zhou X, Yu J, Dong N, Wang X, Yang H, et al. The prognostic values of CYP2B6 genetic polymorphisms and metastatic sites for advanced breast cancer patients treated with Docetaxel and thiotepa. *Sci Rep.* 2015; 5:16775.
232. Zhang Z, Sun C, Zhang L, Chi X, Ji J, Gao X & et al. Triptolide interferes with XRCC1/PARP1-mediated DNA repair and confers sensitization of triple-negative breast cancer cells to cisplatin. *Biomed Pharmacother.* 2019; 109:1541-1546.
233. Fan, L., Goh, B. C., Wong, C. I., Sukri, N., Lim, S. E., Tan, S. H., ... & lau, P. (2008). Genotype of human carbonyl reductase CBR3 correlates with doxorubicin disposition and toxicity. *Pharmacogenetics and Genomics*, 18(7), 623-631.
234. Sacco K, Grech G. Actionable pharmacogenetic markers for prediction and prognosis in breast cancer. *EPMA J.* 2015;6(1):15.
235. Tan S, Lee S, Goh B and Wong J. Pharmacogenetics in Breast Cancer Therapy. *Clinical Cancer Research.*2008. 14(24).
236. Abramowicz A, Gos M. Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation. *J Appl Genet.* 2018;59(3):253-268.

11. ANEXOS

ANEXO 1: Información del secuenciamiento del exoma

Tipo de Lectura	Extremo emparejado
Longitud de Lectura	101
Número de Muestras	1
Kit para preparar librería	Kit - SureSelectXT
Protocolo de Librería	Sistema ajustado para SureSelectXT-Illumina versión B.2, Abril 2015.
Tipo de Secuenciador	Plataforma Illumina

ANEXO 2: Estadística de datos en bruto

Tamaño del archivo	Lectura de bases totales	Lecturas totales	GC(%)	AT(%)	Q20(%)	Q30(%)
19Gb	7.919.007.414	78.406.014	48.957	51.04	98.661	96.596

ANEXO 3: Consentimiento informado

CONFIDENCIALIDAD

Todos los hallazgos en este estudio serán confidenciales. Sus datos personales así como la muestra tendrán un Código y no su nombre, los cuales quedarán registrados. Si los resultados de este estudio son publicados, su nombre no aparecerá.

RESPONSABLES DEL ESTUDIO

Si tuviese preguntas adicionales durante el estudio dirigirse a:

Mg Oscar Acosta. Teléfono 999748440, E-mail: oacostac@yahoo.com

Comité de Ética de la facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Su participación es voluntaria y no hay compensación económica. Incluso si ha decidido participar, Ud. o el investigador responsable pueden interrumpir su participación en cualquier momento previa comunicación escrita.

DECLARACION DEL PARTICIPANTE

Declaro que estoy debidamente informado(a) acerca del presente estudio y que he tenido la oportunidad de hacer las preguntas necesarias acerca de la investigación y mis derechos. Además, declaro que estoy satisfecho(a) con las explicaciones recibidas.

Sé que mi participación es voluntaria y que en cualquier momento puedo retirarme, y además los datos serán confidenciales y el estudio será motivo de publicación en la que no aparecerá mi nombre. Sé que mi muestra, en principio, servirá para obtener información de mi genoma y optimizar el análisis bioinformático de esos datos genéticos, ello permitirá evaluar variantes de susceptibilidad y de respuesta al tratamiento para el cáncer de mama.

Por lo expuesto, acepto ser incluido(a) en el presente estudio, y además autorizo que mi muestra de ADN sea guardada en el Banco Genético para ser utilizada en investigaciones posteriores relacionados con la enfermedad.

.....
Participante

Nombre:
DNI:

.....
Investigador

Nombre:
DNI:

Fecha:

ANEXO 4: Mapa metabólico de quimioterapéuticos y variantes genéticas

A. CICLOFOSFAMIDA

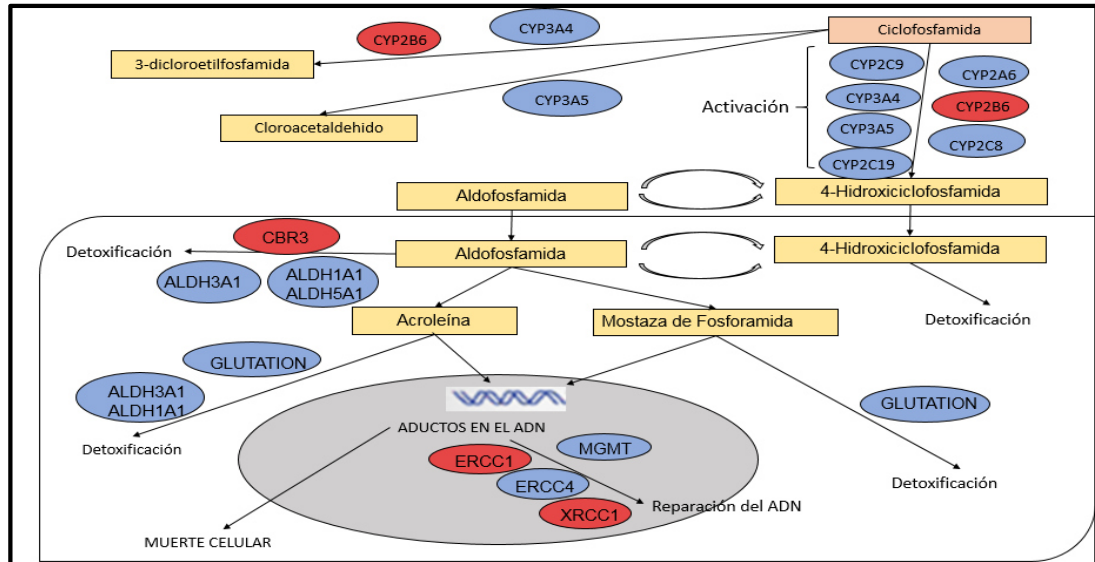


Figura 12: Mapa metabólico de Ciclofosfamida. Modificado de Ciclofosfamida – pharmGKB¹⁶⁵.

LEYENDA:

	Gen que codifica una enzima		Quimioterapéuticos
	Gen con mutación que codifica una enzima		Metabolito

B. DOXORRUBICINA

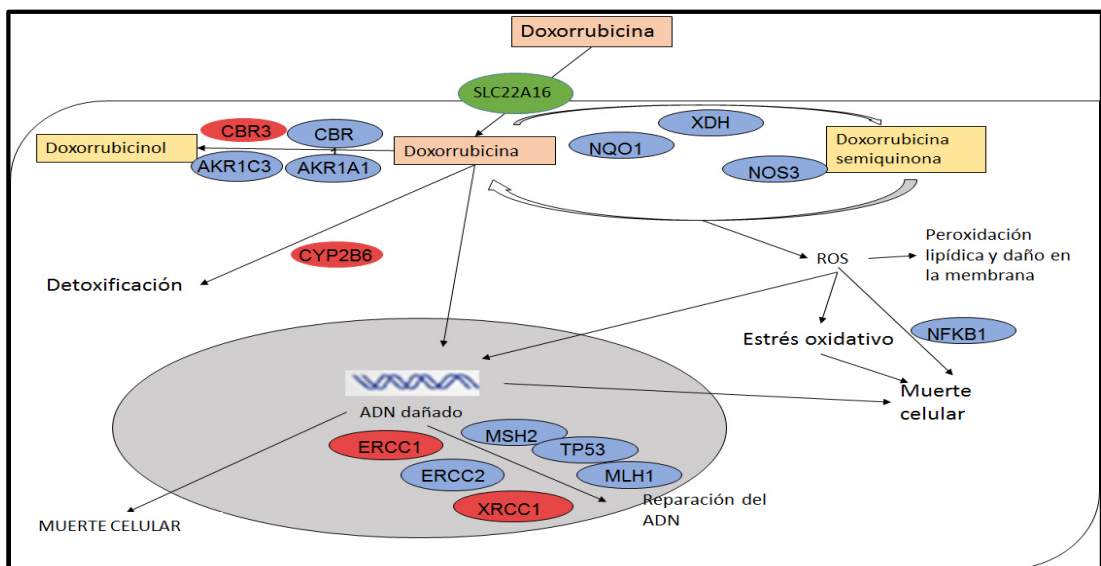


Figura 13: Mapa metabólico de Doxorubicina. Modificado de Doxorubicina – pharmGKB¹⁷⁰.

LEYENDA:

	Gen que codifica una enzima		Quimioterapéuticos
	Gen con mutación que codifica una enzima		Metabolito
	Gen que codifica un transportador de entrada de Doxorubicina en la célula		

C. PACLITAXEL

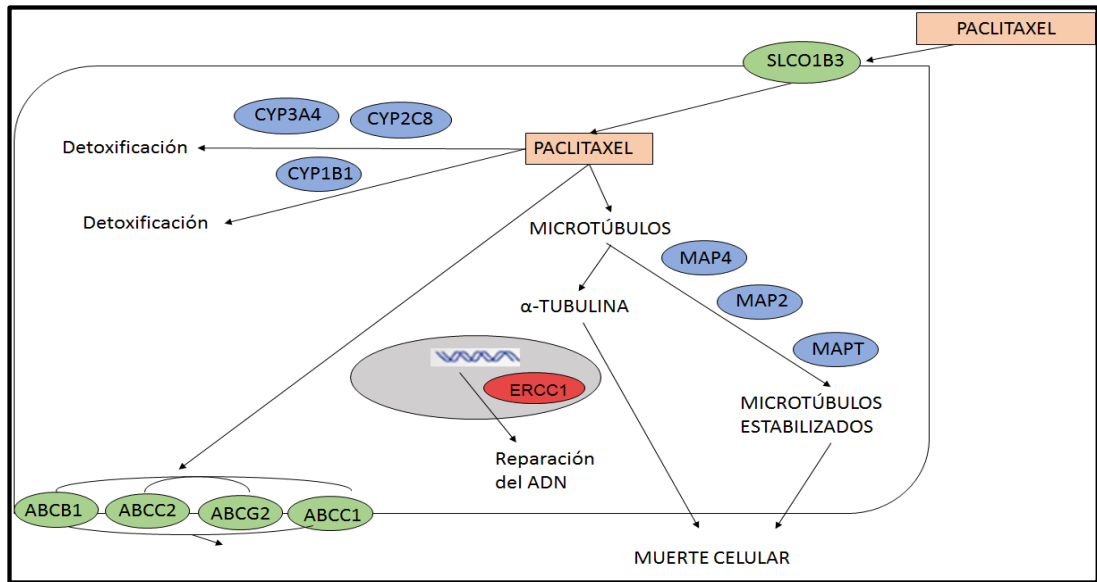






Figura 14: Mapa metabólico de Paclitaxel. Modificado de Paclitaxel – pharmGKB¹⁷².

LEYENDA:

	Gen que codifica un transportador de entrada o salida del Paclitaxel en la célula		Gen con mutación que codifica una enzima
	Gen que codifica una enzima		Quimioterapéuticos

12. APÉNDICE

APÉNDICE 1: GENES RELACIONADOS AL CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO

- **TP73:** Considerado un oncogén en el CMTN al codificar una proteína aberrantemente sin sentido y promover el mimetismo vasculogénico para la nutrición de las células tumorales³⁶.
- **TP53:** Es un gen supresor de células tumorales alterada en el CMTN, en consecuencia, la proteína codificada no inhibe el crecimiento celular y apoptosis, ni induce la reparación del ADN y diferenciación celular³⁷.
- **MMP-14:** Codifica la metaloproteína de matriz 14, expresada en la membrana de las células tumorales, formando invadopodios y permitiendo el aumento en la metástasis³⁸.
- **SHP2:** Es un gen que expresa la enzima fosfatasa 2 de fosfotirosina alterada en el CMTN desregulando la señalización de tirosina quinasa, por ello la inhibición de esta enzima podría ser una alternativa de terapia³⁹.
- **PIK3R3 e ITG:** Genes de banco terapéutico, permiten la codificación de proteínas reguladoras de la actina del citoesqueleto, teniendo relación con la migración de células tumorales en el CMTN⁴⁰.
- **PIK3CA:** Gen relacionado con el CMT, codifica la enzima fosfatidil inositol-45-bisfosfato-3-quinasa activando la vía de señalización PI3K/AKT y BRAF/RAS/MAPK en la patogénesis²¹.
- **γ-H2AX:** Permite la expresión de una histona fosforilada observada en el CMTN, encentrándose mayor expresión cuando hay mutaciones de P53⁴¹.
- **NOTCH:** Este grupo de genes se pueden sobreexpresar debido a mutaciones en su dominio PES y codificar 4 diferentes receptores (NOTCH 1, NOTCH 2, NOTCH 3, NOTCH 4) relacionándose con la angiogénesis tumoral, crecimiento de células neoplásicas, mantenimiento de células madre cancerígenas, procesos metastásicos e inhibición del gen FOXP3. En el CMTN el NOTCH 1 Y NOTCH 4 son oncogenes que se sobreexpresan, siendo el receptor NOTCH 1 sensible a los inhibidores gamma secretasa, el receptor NOTCH 2 suprime el crecimiento tumoral y se encuentra disminuido, así mismo el NOTCH 3 se relaciona con un mejor pronóstico de la enfermedad^{28, 42-45}.
- **FOXP3:** Es un gen supresor de tumores que codifica la proteína Forkhead box 3, reguladora de células T CD4+(tregs), linfocitos asociados con un pronóstico favorable en el CMTN⁴².
- **FOXA2:** Gen codificante de una proteína de la familia Forkhead-box(FOX) que participa en el crecimiento, diferenciación celular, embriogénesis y el desarrollo de tejidos, promoviendo desarrollo de tumores de tipo basal triple negativo⁴⁶.

- **FOXO:** Sub familia de genes del factor de transcripción forkhead que permiten la expresión de las proteínas Forkhead box como el FOXO1, FOXO3a, FOXO4 y FOXO6. La proteína FOXO3a puede producir la migración y proliferación de células tumorales en el CMTN¹⁷.
- **PEA 3, TGFA, MED 1, MED 2:** Grupo de genes sobre expresados en el CMTN. La proteína PEA 3 podría ser un activador del gen NOTCH^{45,47, 48}.
- **MYC:** La sobre expresión de este gen se observa en tumores sólidos malignos como el CMTN, promoviendo la activación o inhibición de la transcripción de genes específicos, vías de señalización involucradas en el crecimiento, proliferación y metabolismo y supervivencia celular^{49,50}.
- **PIN:** La sobre expresión de este gen que codifica la cinasa PIN dependiente o independiente de MYC tiene un papel importante en el desarrollo del CMTN, tomándose como un blanco farmacoterapéutico⁴⁹.
- **ZNF:** Grupo de genes codificantes de proteínas que se unen al ADN o a otras proteínas por dedos de zinc regulando su actividad. Dentro de esta familia se encuentra: La proteína **ZNF469-3** asociada a metástasis pulmonar en el CMTN. La variante frameshift en el gen que expresa la proteína **ZNF717** es observada en el cáncer de mama metastásico, mayormente en los de receptor de estrógeno negativo. La proteína **ZNF326 codificada** por un gen supresor, permite la expresión de genes como DACH1, KLF17 y GATA3 e interrumpe la transición de epitelio a tejido mesenquimal, así como las rutas de las células madre cancerígenas en el CMTN. La proteína **ZNF365** se expresa en menor cantidad en el CMTN relacionándose a la actividad del P53 y BRCA2, y contribuyendo a la estabilidad del genoma humano. La proteína **ZNF10** se une a la región promotora de la β -catenina regulando la vía su señalización en el cáncer de mama, además se encuentra presente en el CMTN.^{51 - 56}.
- **DNM3:** Gen que expresa la proteína dinamin-3 promoviendo la migración de células cancerígenas de mama⁵⁷.
- **TRIM:** Es una familia de genes codificantes de complejos multiproteicos, ubicados tanto en el citoplasma como en el núcleo, se encuentran implicados en el inicio de la oncogénesis, translocando cromosomas y produciendo pérdida funcional en las proteínas supresoras de tumor⁵⁸.
- **RGS:** Codifica proteínas inhibidoras de señalización y de receptores acoplados a proteína G, acelerando la hidrólisis de la GTPasa. Al alterarse las proteínas, se producen modificaciones en la proliferación, crecimiento, angiogénesis y metástasis de células tumorales⁵⁹.
- **KIF3C:** Gen codificador de una proteína quinasina 3C relacionada con la transición de epitelio a tejido mesenquimal, la proliferación celular induciendo las fases G2/M y la metástasis de células cancerígenas de mama. **KIF26B** quinasina 26B se encuentra sobre expresado en el CMTN, además se asocia a mal pronóstico en el cáncer de mama⁶⁰.

- **TEKT4:** Gen codificador de la proteína Tektin4, constituye los microtúbulos, teniendo una mayor expresión en el cáncer de mama. La mutación de esta proteína, promueve resistencia al Paclitaxel al antagonizarlo por desregulación de la estabilidad de los microtúbulos⁶¹.
- **FMNL:** Familia de genes, codificadores de proteínas similares a formina, relacionadas al cáncer de mama⁶².
- **TTN:** Se producen mutaciones a menudo en el gen sin relación al cáncer, sin embargo, la codificación de la proteína Titina alterada, se presenta recurrentemente en los pacientes con CMTN⁶³.
- **MLH1-ATM-BLM-CDH1-CDKN2A-MUTYH-NBN-PRSS1-SLX4:** Genes relacionados al cáncer de mama ligadas a las mutaciones de BRCA1 y BRCA2⁶⁴.
- **ULK:** Familia de genes que permiten la expresión de proteínas transportadoras, relacionadas a la autofagia de orgánulos dañados; se encuentran sobreexpresadas, produciendo tumorigénesis y resistencia a la terapia en el cáncer de mama⁶⁵.
- **LARS2:** Gen codificador de proteína promotora del crecimiento de las células tumorales⁶⁶.
- **SLC:** Familia de genes con mutación en el CMTN, alteran la codificación de los transportadores transmembrana de aminoácidos, entre ellos el de la glutamina, desregulando la forma de macromoléculas, producción de ATP, activación de la vía de señalización mTORC1, el crecimiento celular y la traducción de proteínas. Las proteínas SLC1A5, SLC7A11, SLC6A14, ASCT2 se encuentran altamente expresadas en el CMTN^{67, 68}.
- **ROBO:** El gen ROBO 1 / 2 ubicados en el cromosoma 3 se encuentran modificadas con frecuencia en el CMTN, disminuyendo la codificación del receptor ROBO 1/ 2 en los pacientes con cáncer de mama triple negativo, permitiendo al ligando SLIT2 desfosforilar e inactivar en menor cantidad al CDC42-GTP, forma activa del homólogo de la proteína 42 del control de división celular, promovándose la progresión de células cancerígenas⁶⁹.
- **WDR41:** Se encuentra una baja expresión del gen en el CMTN. La inhibición de la expresión de la proteína, afecta la vía de señalización del AKT/GSK-3 β / β -catenina alterando la migración y proliferación de células en el cáncer de mama⁷⁰.
- **TMEMM88:** Gen codificador de la proteína transmembrana 88, se une a la DVL buscando aumentar el factor de transcripción snail y la activación de la vía de señalización p38 o JNK para generar la invasión y metástasis hacia los ganglios linfáticos de las células del CMTN⁷¹.
- **DVL:** Permite la expresión de las proteínas desaliñadas. La proteína DVL3 está sobreexpresada en el cáncer de mama, aumentando el crecimiento celular y la β -

catenina a través de la activación de la vía de señalización Wnt/ β -catenina activada en el CMTN^{29,72}.

- **FZD7 – LRP6/5:** Genes que sobreexpresan el receptor frizzled FZD7 y el correceptor LRP6/5 en el CMTN, actuando en la vía de señalización Wnt / β -catenina²⁹.
- **FGFR:** Gen codificador del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos. Los receptores FGFR1/2 se encuentran sobreexpresados y se pueden activar mediante las vías de señalización Ras-Raf-MAPK, PI3K-AKT, STATs YPLC γ en el CMTN^{73, 74}.
- **FGFRL1:** Gen codificador del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos similar a 1 sin dominio tirosina/quinasa, inhibe la proliferación y diferenciación celular al regula negativamente las vías de señalización Ras-Raf-MAPK, PI3K-AKT, STATs YPLC γ ⁷⁴.
- **LRRC26:** Genera una baja expresión de la proteína rica en leucinas en el CMTN, quien regula negativamente la señalización del factor nuclear κ B(NF- κ B), inhibiendo la proliferación y migración de células cancerosas⁷⁵.
- **BRCA1 o BRCA2:** Las mutaciones de ambos genes se encuentran asociados al CMTN permitiendo la tumorigénesis y heredándose en forma autosómica recesiva. El gen BRCA1 es la variante de mayor prevalencia en el cáncer de mama que puede tratarse con quimioterapia de platino e inhibidores de polimerasa^{25,75,76,85}.
- **BRD7:** Se presenta en el CMTN como un gen supresor que codifica la proteína 7 con dominio de bromo, siendo una subunidad del complejo de remodelación de la cromatina SWI/SNF que media la regulación transcripcional de los receptores de estrógeno (ESR1)²⁵.
- **USP17:** Familia de genes que se encuentran alterados en el CMTN, disminuyendo la codificación de las proteínas, quienes regulan el crecimiento y la supervivencia celular a través de la vía de señalización Ras/MAPK³⁴.
- **GBA1-3:** Se encuentra alterada en el CMTN disminuyendo la codificación de la enzima β -glucosidasa 1/3⁷⁷.
- **PCDH7:** Gen codificador de la protocadherina 7, se encuentra con mayor expresión en el CMTN, produciendo la activación de la vía de señalización PCDH7-PLC β -Ca²⁺ induciendo la CaMKII para disminuir la vía de señalización Wnt quien regula ciertos genes relacionados al cáncer de mama y la metástasis cerebral en el CMTN^{30, 78}.
- **RP11-434D9.1 / LINC00052/BC016831/IGKV:** La variante de estos genes se asocian con el CMTN³.
- **ALDH1:** Gen codificador del aldehído deshidrogenasa 1, produce la oxidación de aldehídos intracelulares y se relaciona con la supervivencia en el CMTN⁷⁹.
- **RUNX:** Familia de genes que actúan como oncogenes o supresor de tumor, permiten la expresión de las proteínas RUNX1/2/3, actuando en la hematopoyesis, osteogénesis y neurogénesis. La proteína RUNX1 promueve la diferenciación de las células T, el

infiltrado linfocítico de CD4 y la regulación de la producción de citoquinas, asociándose a un pronóstico desfavorable en el CMTN⁸⁰.

- **CA IX:** La elevación de este gen se encuentra ligado a la mutación del gen BRCA 1; el gen CAIX codifica la anhidrasa carbónica IX, marcador de hipoxia que pierde su función en el CMTN⁸¹.
- **DKK1:** Gen alterado en el CMTN, actúa como oncogén, sobre-expresando una proteína con relación a la vía de señalización Wnt-1 y al mal pronóstico de la enfermedad⁸².
- **SLP:** Familia de genes del cromosoma 9 que codifican proteínas similares a estomatina humana SLP (1-3). La proteína SLP2 se encuentra relacionada con el riesgo de metástasis en los ganglios linfáticos y una menor supervivencia en el CMTN⁴.
- **BABAM1:** Gen del cromosoma 19 asociada al CMTN²⁵.
- **PALB2:** Este gen codifica una proteína de unión al BRCA1/2, regulando su función, en respuesta al daño del ADN en el CMTN²⁵.
- **EGF:** Codifica el factor de crecimiento epidérmico sobreexpresado en el CMTN, quien al unirse con su receptor EGFR se autofosforila y activa la cascada EGFR/ Grb2/ Gab1/ Shp2 iniciando la ruta de señalización PI3K/AKT para inducir la metástasis, crecimiento e invasión de células cancerosas además de evitar la apoptosis^{83, 84}.
- **RTK:** Gen que sobreexpresa el receptor de tirosina quinasa en el CMTN, particularmente en los casos donde se observa alteración en los receptores del factor de crecimiento epidérmico e insulínico¹⁸.
- **PD-L1:** Gen que sobreexpresa el ligando 1 de muerte programada en el CMTN, produciendo la muerte de células T para evitar su ataque hacia las células cancerosas¹⁴.
- **PRKCQ:** Gen codificador de la proteína tirosina quinasa C de isoforma theta, activa la transición de epitelio a tejido mesenquimal y la vía de señalización extracelular (Erk)/ MAPK dependiente de quinasa, promoviendo la formación, mantenimiento, proliferación independiente del factor de crecimiento y la migración de células cancerígenas de mama⁸⁴.
- **GPR30:** Gen con alta prevalencia en el CMTN y blanco terapéutico del Tamoxifen, codifica el receptor 30 acoplado a proteína G, presente en la vía de señalización rápida del 17 β -estradiol a fin de realizar la proliferación celular⁸⁵.
- **PTEN:** Permite la expresión de la proteína homóloga de fosfatasa y tensina, catalizador de la desfosforilación de PIP3, disminuida o no expresada en el CMTN^{3, 32, 33}.
- **XBP1:** Expresa la proteína de unión que ensambla el complejo transcripcional con el HIF1a (factor de hipoxia 1a) al reclutar el RNA polimerasa II para regular la expresión

de HIF1a que desarrolla la tumorigenidad, progresión y recurrencia del CMTN, esta proteína también actúa en respuesta al estrés mediado por el ER⁸⁶.

- **GATA3**: Expresa una proteína perteneciente a la familia de dedos de Zn, inhibidora de la transición de tejido epitelial a mesenquimal revirtiendo la tumorigénesis y la metástasis celular en el CMTN; además presenta un efecto citostático sobre el factor de crecimiento tumoral en células metastásicas⁸⁷.
- **FOXC2-ID1-LSD1**: Son genes que se encuentran relacionados con la metástasis del CMTN. El gen FOXC2 codifica la proteína C2 reguladora de la transición del tejido epitelial al tejido mesenquimal⁸⁸.
- **LBX1**: Sobreexpresa la proteína inductora de la transición del tejido epitelial al tejido mesenquimal y de las vías de señalización TGF- β , Wnt y Notch promoviendo la invasión y metástasis celular en el CMTN⁸⁸.
- **NEDD9**: Gen codificador de una proteína promotora de la transición de tejido epitelial a tejido mesenquimal y de la migración de células del CMTN⁸⁸.
- **AKT3**: Codifica la enzima quinasa de serina/treonina disminuida en el CMTN, disminuye la vía de activación PI3K/AKT promoviendo la migración y metástasis celular¹⁹.
- **UBASH3B**: Gen que codifica la enzima fosfatasa de tirosina sobre-expresada en el CMTN. Desfosforila e inhibe la enzima ligasa de ubiquitina, promoviendo la oncogénesis, crecimiento y metástasis celular⁸⁹.
- **CD24**: Sobreexpresa la proteína de superficie celular similar a la mucina en el CMTN, produciendo el escape inmunitario de las células cancerígenas y desarrollando la proliferación, invasión y metástasis del cáncer⁹⁰.
- **ACSL**: Familia de genes codificantes de enzimas acil CoA-sintetasa ligasa 1,3,4,5 quienes promueven el almacenamiento de lípidos en gota lipídicas e inhiben la fosforilación oxidativa y la oxidación de ácidos grasos en el CMTN. La enzima ACSL3, disminuye la migración y metástasis, sin embargo, aumentar la proliferación celular en el CMTN⁹¹.
- **CDCP1**: Es un gen codificador de la proteína 1 con dominio CUB disminuye las gotas lipídicas y aumenta la fosforilación oxidativa contribuyendo a la migración y metástasis en el CMTN. Este proceso se encuentra respaldado por la inhibición de la acetil-CoA sintetasa- ligasa⁹¹.
- **CYFIP2**: Gen que codifica la proteína 2 ligada a FMR1 citoplasmática; se encuentra asociada con una mayor supervivencia del paciente con CMTN⁹².
- **MHC, TAP1/2, HLA-A, TAPBP**: Genes que codifican el complejo mayor de histocompatibilidad, el transportador 1 / 2, el antígeno leucocitario humano y la proteína de unión al transportador de antígenos respectivamente, permiten la activación en menor cantidad de las células T citotóxicas CD8 no siendo detectadas las células

tumorales por el sistema inmune para producir el crecimiento y metástasis en el CMTN^{22, 93}.

- **HLA DQB1 – HLA DRB1:** Son polimorfismos del gen HLA clase II que se encuentran presentes en el cáncer de mama. La variación HLADQB1*02 puede proporcionar una protección contra el riesgo de desarrollar cáncer de mama, sin embargo, las variantes HLADQB1 *03-06 y HLA-DRB1 no tendrían la misma actividad⁹⁴.
- **FOXP2:** Permite una alta expresión de la proteína Forkhead box 2 en el CMTN, modulando las proteínas reguladas por glucosa con el fin de promover el crecimiento e invasión celular⁹⁵.
- **KMT2C:** Gen de supresión tumoral, cuya codificación de la enzima metiltransferasa es interrumpida, causando una variante estructural en el CMTN⁴⁷.
- **PEBP4:** Gen codificador de la proteína 4 de unión a fosfatidiletanolamina, que se encuentra elevada en el cáncer de mama, activa la vía de señalización PI3K/Akt asociada a la proliferación y migración de células cancerígenas⁹⁶.
- **MAL2:** Gen que se encuentra en el cromosoma 8q24 y desarrolla una sobre expresión de la proteína transmembrana que interactúa con la mucina 1 asociada a superficie celular y la proteína tumoral D52 también sobre expresadas en el cáncer de mama⁹⁷.
- **ADCK5:** Sobre expresa el factor de transcripción Aar1 en el cáncer de mama⁹⁸.
- **PRSS3:** Gen que sobreexpresa la enzima proteasa de serina 3 en el CMTN, teniendo implicancia en el desarrollo y la progresión celular²⁰.
- **ALDH1A1:** Permite la expresión de la enzima aldehído deshidrogenasa 1 observada en el cáncer de mama⁹⁹.
- **PCSK5:** Gen codificador de la pro-proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 5 disminuida en el CMTN, disminuyendo el factor de diferenciación del crecimiento 11 - GDF11, además aumentando la invasión y la metástasis celular¹⁰⁰.
- **FBXW7:** Gen que presenta mutaciones en el CMTN no logrando codificar la proteína 7 con F-box/WD¹⁰¹.
- **ITIH5:** Gen supresor de células tumorales, se encuentra disminuida su codificación en el cáncer de mama sobre todo tipo basal, no logrando reprogramar las de células madre cancerígenas; ni detener el deterioro de la progresión del cáncer¹⁰².
- **TET1:** Permite la sobreexpresión de la enzima Tet metilcitosina dioxigenasa 1, quien interviene en la producción de citosina y activa la vía de señalización PI3K-AKT-mTOR para promover la proliferación de células cancerígenas de mama²⁷.
- **SNCG:** Promueve la expresión de la proteína gamma sinucleína, activando la quinasa 1 c-Jun N-terminal (JNK1) y el receptor de estrógeno; además de interactuar con el receptor de andrógenos(AR), el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico

humano, la proteína quinasa B, la fosfolipasa CB2 y con la proteína de unión Poli (rC) 1 (PCBP1) para proporcionar resistencia a la radioterapia en el CMTN¹⁰³.

- **MARCH5**: Gen presente en el CMTN sobreexpresando la codificación de una enzima ligasa E3 de ubiquitina¹⁰⁴.
- **CTBP**: Codifica la proteína de unión al extremo C-terminar, siendo este un represor transcripcional dependiente de NADH que recluta histonas a la cromatina. La proteína CTBP2 se encuentra sobre expresada en el cáncer de mama ^{105, 106}.
- **MUC**: Gen codificador de mucinas. La proteína MUC1 se expresa en el carcinoma ductal invasivo de mama con receptor de estrógeno positivo y en el CMTN en etapa temprana, activando y evitando la degradación del receptor del factor de crecimiento epidérmico. Además, las proteínas: MUC6 se encuentra relacionada a un mal pronóstico e invasión linfática del carcinoma de mama; MUC2 demuestra niveles de expresión elevados en el carcinoma de mama; MUC5B se expresa comúnmente en el cáncer de mama tanto invasivo como in situ. MUC19 se presenta aumentada en el cáncer de mama promoviendo la proliferación e invasión de células cancerígenas^{107 – 110}.
- **NCR3LG1**: Gen que expresa el ligando 1 del receptor de citotoxicidad 3 de las células asesinas naturales en CMTN, mas no en células normales, tiene relación con la disminución de la apoptosis y el aumento de la proliferación además de la migración celular¹¹¹.
- **CREB3L1**: Gen que podría estar metilado en el CMTN, disminuyendo o no expresando la codificación de la proteína 1 de la familia CREB (proteína de unión a elementos que responden al AMPc y a la activación del factor de transcripción), por ello no se logra modificar y activar las proteínas que al sintetizarse sufren un plegamiento, siendo este un signo de mal pronóstico, además de aumentar la metástasis y proliferación celular¹¹².
- **PANX1**: Gen mutado en el cáncer de mama, sobreexpresa la proteína Pannexin 1, llevando a un aumento en la actividad de los canales de ATP, la promoción de la supervivencia celular y la metástasis pulmonar¹¹³.
- **CASP12/ CASP5**: Variantes genéticas encontradas en el CMTN que codifican las proteínas Caspasa 12 y Caspasa 5 respectivamente. La proteína Caspasa 5 podría ser un predictor de CMTN¹¹⁴.
- **TMPRSS4**: Gen que sobreexpresa la enzima proteasa transmembrana de serina 4 en el CMTN, induciendo la transición de epitelio a tejido mesenquimal asociada con la metástasis en los ganglios linfáticos, el tamaño del tumor, grado histológico y mal pronóstico¹¹⁵.
- **FLI1**: Este gen disminuye la codificación del factor de transcripción de integración de la leucemia Friend 1 en el cáncer de mama, disminuyendo la proteína P21 quien

codifica al inhibidor de quinasa dependiente de ciclina para inhibir la migración e invasión de celular¹¹⁶.

- **VWF:** Gen codificador del factor de von Willebrand, tendría una función reguladora al disminuir la metástasis de las células tumorales mamarias mediante la apoptosis celular; además de disminuir la angiogénesis¹¹⁷.
- **ETV6:** Gen mutado en el CMTN, que permite la expresión de un factor de transcripción, relacionado a un buen pronóstico de la enfermedad¹¹⁸.
- **VDR:** Desarrolla una menor codificación del receptor de vitamina D en el cáncer de mama, debido a promover la inhibición de su progresión. El tratamiento con Vitamina D reduce significativamente la invasión y metástasis de las células cancerosas con receptor de estrógenos negativo¹¹⁹.
- **KMT2D:** Gen mutado en el CMTN, codificador de la enzima histona-lisina N-metiltransferasa 2D con menor actividad en la regulación transcripcional. Además, es vinculada con un pronóstico perjudicial debido a la desregulación de la proteína RAC3 y al aumento de la invasión y migración de células cancerígenas¹²⁰.
- **STAT2:** Gen codificador de la proteína 2 transductora y activadora de la transcripción, relacionada con el aumento del interferón alfa con el fin de promover la proliferación, migración e invasión celular en el cáncer de mama¹²¹.
- **LRP1:** Codifica la proteína 1 relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad permitiendo la progresión de células cancerígenas de mama¹²².
- **USP15:** Gen que codifica la proteasa específica de Ubiquitina, desubiquitinizando al receptor 1 del factor de crecimiento tumoral β para activar la transición del tejido epitelial a tejido mesenquimático e invasión de células cancerígenas de mama¹²³.
- **LGR5:** Sobreexpresa el receptor 5 acoplado a proteína G con repeticiones rica en leucina en el CMTN, activando la vía señalización de Wnt/ β -catenina y desarrollando metástasis en ganglios linfáticos en etapa temprana, además de ser un marcador de mal pronóstico¹²⁴.
- **ORAI1:** Gen codificador de la sobreexpresión de los canales selectivos de iones de calcio, permitiendo el ingreso de calcio a la célula además de activar la vía de señalización de Notch1 para aumentar la proliferación y migración celular en el CMTN¹²⁵.
- **SIX1:** Codifica el factor de transcripción “Sine Oculis Homeobox”; siendo un posible marcador pronóstico del cáncer de mama, al regular la función de la transición de epitelio a tejido mesenquimático, considerándose un pro-tumorigénico¹²⁶.
- **HERC1:** Este gen se encuentra relacionado con la patogénesis del CMTN. Codifica una ligasa de ubiquitina E3, quien desestabiliza al supresor de tumores TSC2(complejo de esclerosis tuberosa 2) con el propósito de evitar la regulación negativa de mTOR¹²⁷.

- **SYNM:** Gen que codifica la proteína synemin relacionada al cáncer de mama invasivo¹²⁸.
- **PDPK1:** Sobreexpresa la enzima quinasa 1 dependiente de fosfoinositida en el CMTN, activando la vía de señalización PI3K/Akt y la proliferación celular^{32, 129}.
- **IL32:** Permite la sobreexpresión de la interleucina 32 en el CMTN²⁴.
- **PARN:** Disminuye la expresión de la enzima ribonucleasa específica poli A en el CMTN debido a su función supresora de tumores con mecanismo desconocido¹³⁰.
- **EEF2K:** Gen que sobreexpresa la enzima quinasa 2 del factor de alargamiento eucariótico en el CMTN, reguladora de la vía de señalización Src/ Fak, PI3K/AKT, ciclina D1 y del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina (IGFR) asociadas a la proliferación, migración e invasión de células cancerígenas, así como la baja supervivencia y mal pronóstico de la enfermedad¹³¹.
- **NCOR1:** Gen supresor de tumores que codifica al co-represor 1 del receptor nuclear disminuido en el cáncer de mama, en consecuencia, no se regula la actividad de las histonas acetiltransferasas y desacetilasas, ni modifica la conformación de la cromatina además de la transcripción. La pérdida de expresión del NCOR1 se ha asociado con la resistencia a la terapia hormonal, en particular al tamoxifeno, debido a ser un co-represor del receptor de estrógenos¹³².
- **MMP28:** Gen codificador de la proteína matriz de metalopeptidasa 28, su presencia en el CMTN nos da un pronóstico desfavorable¹³³.
- **DHX8:** Gen relacionado con células tumorales benignos de mama, permite la codificación de la enzima helicasa 8 de caja Deah¹³⁴.
- **ATXN7L3:** Produce mayor expresión de la proteína 3 similar a ataxina 7 en el cáncer de mama, disminuyendo la monoubiquitinación de la histona H2B y promoviendo la regulación genética¹³⁵.
- **MPP2:** Expresa altamente una proteína perteneciente a la familia de factores de transcripción forkhead en el cáncer de mama, desestabilizando la tubulina y regulando el movimiento de los microtúbulos para realizar la tumorigénesis, la reparación del ADN, además de producir resistencia al Paclitaxel, Epirrubicina¹³⁶.
- **CDC27:** Gen que codifica la proteína 27 del ciclo de división celular, induciendo al factor de crecimiento tumoral β y fosforilando al complejo promotor de anafase (APC/C). Permite una mejor respuesta a la radioterapia en el CMTN¹³⁷.
- **PPP1R9B:** Promueve la poca expresión de la subunidad 9B de la proteína reguladora de fosfatasa1 en el CMTN, reduciendo la actividad de la subunidad catalítica de la proteína fosfatasa 1(PPP1CA) y aumentando la fosforilación de la proteína de riboblastoma (pRb) para contribuir a un mal pronóstico además de mayor agresión¹³⁸.

- **ABCC3:** Expresa la proteína, miembro 3 de la subfamilia C de transportadores transmembrana del casete de unión al ATP, relacionada a la vía del receptor de arilo hidrocarburo(AhR) con la finalidad de producir proliferación, migración y metástasis pulmonar de células cancerígenas de mama, así mismo, se desarrolla resistencia a múltiples fármacos¹³⁹.
- **STXBP4:** Gen asociado con el cáncer de mama, permite la codificación de la proteína de unión a la syntaxina 4 posiblemente relacionada a mutaciones del BRCA1 o BRCA2¹⁴⁰.
- **PLK1:** Gen que codifica una enzima quinasa altamente expresada en el CMTN, conllevando al crecimiento y proliferación celular¹⁴¹.
- **KLF4:** Gen codificador del factor 4 kruppel-like, quien inhibe la proliferación e invasión celular presentando un pronóstico favorable en el CMTN¹⁴².
- **TMPRSS3:** Gen que sobreexpresa la proteasa transmembrana de serina 3 en el CMTN, interactúa con la UBASH3A (proteína A asociada a ubiquitina y contiendo dominios SH3), la vía de señalización del EGFR (Receptor del factor de crecimiento epidérmico), CDH23 (caderina 23), MYO15A (miosina 15 A) y la GRXCR1(glutaredoxina 1 rico en cisteína) con el fin de producir invasión celular; además se observa resistencia al trastuzumab¹⁴³.
- **EPOR:** Gen codificador del receptor de eritropoyetina, activa las vías de señalización JAK2/STAT5, PI3K/AKT y Ras/ERK relacionados a la progresión del cáncer de mama¹⁴⁴.
- **PRDX2/3:** Genes codificadores de proteínas pertenecientes a la familia peroxiredoxina, contribuyen a la metástasis pulmonar y a la protección frente al estrés oxidativo de las células cancerígenas de mama y del CMTN^{145, 146}.
- **CRTC1:** Gen que codifica al coactivador de transcripción, regulado por CREB 1, fusionada con el MAML2 (coactivador Transcriptional Mastermind Like 2) en el cáncer de mama¹⁴⁷.
- **KMT2B:** Permite la expresión de la proteína metiltransferasa de lisina 2B; relacionada al cáncer de mama debido a regular la codificación de varios genes diana del Erα¹⁴⁸.
- **CYP2A6:** Sobreexpresa la enzima citocromo P450 2A6 en el cáncer de mama de receptor de estrógenos positivo¹⁴⁹.
- **GGT1:** Sobreexpresa la proenzima glutatión hidrolasa 1 en el CMTN¹⁵⁰.
- **HDAC8:** Este gen codifica la histona deacetilasa 8, activando la proteína reguladora de transcripción (YAP) hacia el desarrollo de la migración, proliferación, diferenciación, invasión y metástasis celular en el CMTN¹⁵¹.
- **NXF2:** Gen con mutaciones de escasa frecuencia en el CMTN¹⁵².

- **ARHGEF6:** Permite la sobreexpresión del factor Rac/Cdc42 de intercambio de nucleótido de guanina 6 en el cáncer de mama¹⁵³.
- **CERT – GCS:** Codifica la proteína de transferencia de ceramida y glucosilceramida transferasa respectivamente, siendo posibles blancos terapéuticos en el CMTN⁷⁷.
- **PARP:** Codifica la enzima Poli(ADP-ribosa) polimerasa, inhibiendo la muerte de células tumorales al no hidrolizar doble hélice del ADN^{81,154}.
- **DACT2:** Gen con escasa codificación de la proteína supresora del CMTN, activando la transición de tejido epitelial a mesenquimal, además se observa inhibición en el antagonismo de la vía de señalización Wnt/ β -catenina y AKT/GSK-3 en las células tumorales mamarias¹⁵⁵.
- **PSPH - PHGDH - SHMT1:** Permiten la sobreexpresión de las enzimas fosfoserina fosfatasa, 3-fosfoglicerato deshidrogenasa y serina hidroximetiltransferasa respectivamente; aumentando el metabolismo de glicina asociada a la producción de serina con el fin de promover la progresión de células cancerígenas en el CMTN¹⁵⁶.
- **LIMK1:** Gen codificador de la quinasa con dominio LIM1. Esta proteína fosforila e inactiva la cofilina (CFL), disminuyendo su unión y la polimerización de la actina para inducir la invasión y progresión de células del CMTN¹⁵⁷.
- **MCF7 - MAGED1 - SYK - EPCAM:** Se encuentran altamente expresados en el CMTN¹⁵⁸.
- **SRRM3:** Gen que permite la expresión de la proteína Matriz 3 con repetición de serina / arginina, disminuyendo la proteína REST (silenciador de la transcripción del elemento represor-1) en el cáncer de mama invasivo¹⁵⁸.
- **C-KIT:** Permite la sobreexpresión de una proteína receptora de tirosina quinasa en el CMTN³¹.
- **VEGFR2:** Sobreexpresa el receptor 2 del factor de crecimiento del endotelio vascular en el CMTN³¹.
- **PDGFR:** Codifica al receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas, teniendo relación con la producción de invadopodios en tumores triple negativo³¹.
- **SMPD1:** Expresa la enzima esfingomielinasa, hidrolizando la esfingomielina para formar ceramida asociada con la progresión y peor pronóstico del CMTN¹⁵⁹.
- **ALOX12B:** Gen asociado al cáncer de mama, permite la codificación de la enzima lipogenasa de araquidonato 12R, amplificando su actividad inmunosupresora¹⁶⁰.
- **ESR:** Gen metilado inhibe la codificación del receptor de estrógenos en el CMTN, sobre activando la vía PI3K /AKT / mTORC1 las vías de señalización PI3K /AKT/ mTORC1 o HDAC (histona deacetilasa) además de estar asociada a la resistencia de la terapia endocrina^{161, 162}.

APÉNDICE 2:

Tabla 2: Quimioterapéuticos y genes relacionados

Quimioterapéuticos prescritos en el CMTN y los genes que pueden interferir en su actividad terapéutica o metabolismo.

N°	TERAPIA	GENES	PROTEÍNAS QUE CODIFICAN Y SU ACTIVIDAD
1	Carboplatino ¹⁶⁴ .	RNF8	Proteína ligasa de ubiquitina E3. Asociada con la eficacia del Carboplatino.
		BARD1	BRCA1 ligada a la proteína RING. Asociada con la eficacia del Carboplatino.
		ERBB3	Receptor de Erb-2 de tirosina quinasa 3. Asociada con la eficacia del Carboplatino.
		ERBB2	Receptor de Erb-2 de tirosina quinasa 2. Asociada con la eficacia del Carboplatino.
2	Ciclofosfamida ¹⁶⁵ .	CYP19A1	Enzimas de la familia del citocromo P450.
		CYP1B1	Activan y metabolizan los medicamentos.
		CYP2C19	Enzima de la familia del citocromo P450. Metaboliza la Ciclofosfamida a 4-hidroxíciclofosfamida.
		CYP2B6	Enzimas de la familia del citocromo P450.
		CYP2C8	Activa la Ciclofosfamida.
		CYP3A4	Enzima de la familia del citocromo P450. Permite la formación de 3-dicloroetilfosfamida a partir de la Ciclofosfamida para su eliminación del organismo.
		CYP1B1	Familia del citocromo P450. Metabolismo hepático de la Ciclofosfamida.
		GSTP1	Glutación S-transferasa pi 1. Interviene en la conjugación de medicamentos durante su metabolismo, para la detoxificación de la Ciclofosfamida.
		ALDH1A1	Aldehído deshidrogenasa 1. Permite la formación de carboxifosfamida para la detoxificación de la Ciclofosfamida.
		ALDH3A1	Aldehído deshidrogenasa 3. Permite la formación de carboxifosfamida para la detoxificación de la Ciclofosfamida.
		ERCC1	Enzima endonucleasa que repara el ADN mediante escisión. Diana farmacológica de la Ciclofosfamida en el extremo 3' del ADN.
		XRCC1	Codifica la proteína reparadora del ADN por daño de los rayos X.
		ABCB1	Proteínas de promoción a resistencia de múltiples fármacos.
		ABCC2	
		ABCC4	
		ABCG2	Actúa como transportador para el ingreso y salida de la célula de la Ciclofosfamida.

		SLCO1B1	Transportador de sustancias orgánicas aniónicas.
		SLC22A16	Transportador de solutos al interior o exterior de la célula.
		NQO2	Quinona deshidrogenasa 2. Metaboliza la Ciclofosfamida. Promueve la eficacia de la Ciclofosfamida.
		NOS3	Óxido nítrico sintasa 3. Relacionada con la eficacia de la Ciclofosfamida.
		FGFR4	Receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 4. Promueve la eficacia de la Ciclofosfamida
		SOD2	Superóxido dismutasa 2. Promueve la eficacia de la Ciclofosfamida
		INSR	Receptor de insulina relacionado. Promueve la eficacia de la Ciclofosfamida.
		GSTP1	Enzima glutatión S-transferasa P 1. Promueve la eficacia de la Ciclofosfamida.
		TP53	Proteína tumoral p53. Provoca la muerte celular mediante apoptosis. Referido con la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		CBR3	Carbonil reductasa 3. Metaboliza la Ciclofosfamida. Referido con la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		HMMR	Receptor de la motilidad mediada por hialuronano. Referido con la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		RBX1	Proteína ligasa de ubiquitina E3. Referido con la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		PPP2R5D	Regulador de la proteína fosfatasa 2. Referido con la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		TOP2A	Topoisomerasa 2. Referido con la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		TP53AIP1	Proteína 1 que induce la apoptosis de la proteína tumoral P53. Referido con la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		PIGB	Fosfatidilinositol glicano de biosíntesis de anclaje clase B. Referido con la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		PERP	Efector de apoptosis TP 53. Referido con la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		NOS1	Enzima óxido nítrico sintetasa 1. Referido con la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		CCNK	Ciclina K. Referido a la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		IRS1	Sustrato del receptor de insulina 1. Referido a la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		GNL3	Proteína nuclear G 3. Referido a la toxicidad de la Ciclofosfamida.
		CBR1	Carbonil reductasa 1. Referido a la toxicidad de la Ciclofosfamida.

		PIK3R2	Fosfoinositol 3 – quinasa. Referido a la toxicidad de la Ciclofosfamida.
3	Metotrexato ¹⁶⁶ .	NOS3	Óxido nítrico sintasa 3. Referida a la eficacia del Metotrexato.
		FGFR4	Receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 4. Referida a la eficacia del Metotrexato.
4	Fluorouracilo ¹⁶⁷ .	NQO1	Quinona deshidrogenasa 1 NAD (P) H. Promueve la eficacia del Fluorouracilo.
		CYP19A1	Enzima de la familia del citocromo P450. Promueve la eficacia del Fluorouracilo.
		HMMR	Receptor de la motilidad mediada por hialuronano. Promueve la eficacia del Fluorouracilo.
		NOS3	Enzima óxido nítrico sintetasa 3 relacionado. Promueve la eficacia del Fluorouracilo.
		FGFR4	Receptor del factor de crecimiento de fibroblastos 4. Promueve la eficacia del Fluorouracilo.
		DPYD	Dihidropirimidina dehidrogenasa. Metaboliza el Fluorouracilo.
		ERCC1	Enzima endonucleasa que repara el ADN mediante escisión.
		XRCC1	Proteína reparadora del ADN por daño de los rayos X.
		ABCG2	Proteínas de promoción a resistencia de múltiples fármacos. Actúa como transportador para la salida de la célula del Fluorouracilo.
		ABCB1	
		ABCC2	
		ABCC4	
		SLCO1B1	Transportador de sustancias orgánicas aniónicas relacionado con la salida del Fluorouracilo de la célula.
		SLC22A16	Transportador que permite el ingreso del Fluorouracilo al interior de la célula.
		RBX1	Proteína ligasa de ubiquitina E3. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		PPP2R5D	Regulador de la proteína fosfatasa 2. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		PIGB	Fosfatidilinositol glicano de biosíntesis de anclaje clase B. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		PERP	Efectores de apoptosis TP 53. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		GSTP1	Glutación S-transferasa P 1. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		IRS1	Sustrato del receptor de insulina 1. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		GNL3	Proteína nuclear G 3. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		CBR1	Carbonil reductasa 1. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		PIK3R2	Fosfoinositol 3 – quinasa.

			Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		ALDH3A1	Enzima aldehído deshidrogenasa 3. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		ATM	Quinasa de serina – treonina 3. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		CBR3	Carbonil reductasa 3. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		CYP1B1	Enzima de la familia del citocromo P450. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		CYP2C19	
		INSR	Receptor de insulina. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		NOS1	Enzima óxido nítrico sintetasa 1. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		FOXO1	Forkhead Box O1. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		CCNK	Ciclina K. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		TP53	Proteína tumoral p53. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		TOP2A	Topoisomerasa 2. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		CYP2C8	Enzima de la familia del citocromo P450. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
		TP53AIP1	Proteína 1 que induce la apoptosis de la proteína tumoral P53. Desarrolla toxicidad del Fluorouracilo.
5	Capecitabine ¹⁶⁸ .	DPYD	Dihidropirimidina dehidrogenasa. Metaboliza la Capecitabine.
		CYP1A1	Familia del citocromo P450. Fomenta la eficacia de la Capecitabine.
6	Gemcitabina ¹⁶⁹ .	RRM1	Ribonucleótido reductasa M1, relacionado con la formación del dinucleótido trifosfatos reprimidos por la Gemcitabina.
7	Adriamicina ¹⁷⁰ . (Doxorrubicina)	CYP19A1	Enzimas de la familia del citocromo P450 Activan y metabolizan los medicamentos.
		CYP1B1	
		CYP2C19	
		CYP2B6	
		ALDH1A1	Enzima aldehído deshidrogenasa 1.
		ERCC1	Enzima endonucleasa. Repara el ADN mediante escisión. Diana farmacológica de la Adriamicina en el extremo 3' del ADN.
		XRCC1	Proteína que repara el ADN al daño producido por los rayos X.
		NQO2	Quinona deshidrogenasa 2. Permite la formación de Doxorrubicina semiquinona a partir de Doxorrubicina produciendo estrés oxidativo en las células cancerígenas.
		ABCB1	Proteínas de promoción a resistencia de múltiples fármacos.
		ABCC4	
		ABCC2	

			Actúan como transportadores de la Doxorubicina para su ingreso y salida a la célula.
		ABCG2	Transportador de la Doxorubicina promoviendo su resistencia.
		SLC22A16	Transportador de la Doxorubicina permitiendo el ingreso a la célula.
		SLCO1B1	Transportador de sustancias orgánicas aniónicas.
		CBR1	Enzima carbonil reductasa 1. Metaboliza la Doxorubicina en Doxorubicinol.
		CBR3	Enzima carbonil reductasa 3. Metaboliza la Doxorubicina en Doxorubicinol.
		AKR1C3	Enzima aldo-ceto reductasa. Metaboliza la Doxorubicina en Doxorubicinol.
		NOS3	Enzima óxido nítrico sintetasa 3. Asociada a la cardiotoxicidad de la Doxorubicina.
		GSTP1	Enzima glutatión S-transferasa P 1. Produce toxicidad de la Doxorubicina.
		ALDH3A1	Enzima aldehído deshidrogenasa 3. Produce toxicidad de la Doxorubicina.
		ATM	Quinasa de serina – treonina. Produce toxicidad de la Doxorubicina.
		TP53	Proteína tumoral p53, se sobreexpresa por la actividad de la Doxorubicina.
8	Epirubicina ¹⁷¹ .	GSTP1	Glutatión S-transferasa pi 1. Interviene en la conjugación de medicamentos durante su metabolismo. Relacionada con la eficacia y toxicidad de la Epirubicina.
		CYP19A1	Enzima de la familia del citocromo P450. Relacionada con la eficacia de la Epirubicina.
		CYP1B1	Enzima de la familia del citocromo P450. Relacionada con la eficacia de la Epirubicina.
		MDM4	Regulador del P53. Relacionada con la eficacia de la Epirubicina.
		CBR3	Carbonil reductasa 3. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		HMMR	Receptor de la motilidad mediada por hialuronano. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		RBX1	Proteína ligasa de ubiquitina E3. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		SLCO1B1	Transportador de sustancias orgánicas aniónicas. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		PIK3R2	Fosfoinositol 3 – quinasa. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		NOS1	Enzima óxido nítrico sintetasa 1. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		FOXO1	Forkhead Box O1.

			Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		PPP2R5D	Regulador de la proteína fosfatasa 2. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		CCNK	Ciclina K. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		PIGB	Fosfatidilinositol glicano de biosíntesis de anclaje clase B. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		TP53	Proteína tumoral p53. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		PERP	Efecto de apoptosis TP 53. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		TOP2A	Topoisomerasa 2. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		INSR	Receptor de insulina. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		IRS1	Sustrato del receptor de insulina 1. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		GNL3	Proteína nuclear G 3. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		CYP2C8	Enzima de la familia del citocromo P450. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
		TP53AIP1	Proteína 1 que induce la apoptosis de la proteína tumoral P53. Posibilita la toxicidad de la Epirubicina.
9	Paclitaxel ¹⁷² .	CYP19A1	Enzimas de la familia del citocromo P450. Metabolizan el Paclitaxel.
		CYP1B1	
		CYP3A4	
		CYP2C8	
		ABCB1	Proteínas de promoción a resistencia de múltiples fármacos. Actúa como transportador para la salida de la célula del Paclitaxel.
		EPHA5	Receptor de EPH A5. Relacionada a la toxicidad del Paclitaxel.
		ERCC1	Enzima endonucleasa que repara el ADN mediante escisión. Relacionada a la toxicidad del Paclitaxel.
		SOD2	Superóxido dismutasa 2. Relacionada a la toxicidad del Paclitaxel.
10	Docetaxel ¹⁷³ .	CYP19A1	Enzimas de la familia del citocromo P450. Asociada a la eficacia del Docetaxel.
		CYP1A1	
		VEGFA	Factor A de crecimiento vascular endotelial. Asociada a la eficacia del Docetaxel.
		MDM4	Regulador del P53 relacionada. Asociada a la eficacia del Docetaxel.
		RNF8	Proteína ligasa de ubiquitina E3. Asociada a la eficacia del Docetaxel.
		BARD1	BRCA1 ligado a RING. Asociada a la eficacia del Docetaxel.
		ERBB3	Receptor de Erb-2 de tirosina quinasa 3.

			Asociada a la eficacia del Docetaxel.
		ERBB2	Receptor de Erb-2 de tirosina quinasa 2. Asociada a la eficacia del Docetaxel.
		SLCO1B1	Transportador de sustancias orgánicas aniónicas. Permite el ingreso del Docetaxel a la célula.
		AKR1C3	Aldo-ceto reductasa.
		ERCC1	Enzima endonucleasa que repara el ADN mediante escisión. Relacionado con la toxicidad del Docetaxel.
		ERCC2	
11	Vinorelbine ¹⁷⁴ .	No se reporta genes relacionados	
12	Ixabepilona ¹⁷⁵ .	No se reporta genes relacionados	

Fuente:

1. Departamento de Oncología Médica. Guía de Práctica clínica de Cáncer de mama. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. 2013.
2. Pharmgkb.org [Internet]. California. Universidad Stanford; 2000 [actualizado el 29 Jul 2019; citado el 03 Ago 2019]. <https://www.pharmgkb.org/whatIsPharmgkb/prescribing>